



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

Г.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Гомоцистеин (Homocysteine Enzymatic Assay (HCY) cobas c systems)

Гомоцистеин (НСУ)

Информация о реагентах

Гомоцистеин

cobas с 111, 4х50 тестов

Номер по каталогу 05141800190

НСУ: ACN 768

Калибратор НСУ

Номер по каталогу 05142431190 Код 716 (САНСУ)

Контроль НСУ

Номер по каталогу 05142423190

Код 244 (НСУ 1), level 1

Код 245 (НСУ 2), level 2

Дилуэнт NaCl 9%, 4х12 мл

Номер по каталогу 04774230190 Код 951

Предписание для использования

Предназначен для количественного определения концентрации общего L-гомоцистеина in vitro в сыворотке и плазме.

Теоретическое обоснование

Гомоцистеин (НСУ) является серосодержащей аминокислотой, образуется при внутриклеточном превращении метионина в цистеин. Общий гомоцистеин (tНСУ) представляет собой сумму всех форм гомоцистеина, включая окисленные, связанные с белком и свободные.

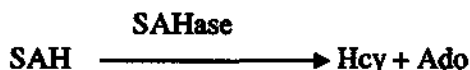
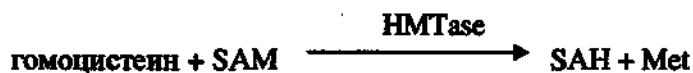
Высокий уровень общего гомоцистеина является важным фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Повышение уровня гомоцистеина в крови может вызвать повреждения артериального русла по причине раздражающего действия гомоцистеина, и в результате воспаления и формирования тромба, который может заблокировать кровяное русло к сердцу.

Увеличение уровня общего гомоцистеина возникает в следующих случаях:

- 1) врожденный дефицит ферментов, вовлеченных в метаболизм гомоцистеина, таких как цистатионин бета-синтетаза (CBS), метионин синтетаза (MS), и метилентетрагидрофолат редуктаза (MTHFR);
- 2) дефицит в потребляемых продуктах питания витаминов В, таких как В₆, В₁₂ и фолатов;
- 3) почечная недостаточность по причине аминокислотного клиренса;
- 4) влияние лекарственных препаратов, таких как окись азота, метотрексат и фенитоин, на метаболизм гомоцистеина. Повышение уровня общего гомоцистеина также связано с болезнью Альцгеймера и остеопорозом.

Принцип метода

Ферментативный метод определения гомоцистеина основывается на новом ферментативном циклическом методе, в котором определяется продукт превращения ко-субстрата вместо определения ко-субстрата или продукта превращения гомоцистеина. В этом методе окисленный гомоцистеин сперва восстанавливается до свободного цистеина, который реагирует с ко-субстратом, S-аденозилметионин (SAM), в присутствии катализатора реакции - гомоцистеин S-метилтрансферазы (HMTase). Продуктом реакции являются метионин (Met) и S-аденозилгомоцистеин (SAH). SAH определяется двойной ферментативной реакцией, в которой SAH гидролизуется в аденосин (Ado) и гомоцистеин в присутствии SAH гидролазы (SAHase). Образовавшийся Ado сразу гидролизуется в иносин и аммиак, который реагирует с глутамат дегидрогеназой с сопутствующим превращением NADH в NAD⁺. Концентрация гомоцистеина в образце обратно пропорциональная количеству NADH превращенному в NAD⁺.



Реагенты

Готовы к использованию

R1: 4x17,2 мл

R2: 4x4,2 мл

SR: 4x3,4 мл

Активные компоненты:

S-аденозилметионин (SAM)	0,1 ммоль
NADH	0,2 ммоль
TCEP	0,5 ммоль
2-оксoglутарат	5,0 ммоль
Глутамат дегидрогеназа	10 КУ/л
SAH гидролаза	3,0 КУ/л
Аденозин деаминаза	5,0 КУ/л
Гомоцистеин метилтрансфераза	5,0 КУ/л

Меры предосторожности и предупреждения

Только для in vitro диагностики

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.

Любой остаток реагента должен быть удалён после рекомендуемого срока использования его на борту анализатора (см. ниже).

Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение и стабильность реагентов

Хранение при 2-8°C

См срок годности на упаковке

В приборе при использовании

холодильника анализатора

30 дней

Не замораживать

Реагент должен быть чистым. Реагент, который стал мутным или оптическая плотность на длине волны 340 нм менее 0,5, необходимо забраковать.

Сбор и подготовка образцов

Сыворотка, плазма: гепариновая плазма

Очень важно центрифугировать образцы крови сразу же после сбора образца для отделения плазмы от клеток крови. Если незамедлительное центрифугирование не возможно, собранные образцы крови должны быть помещены в лед и отцентрифугированы в течение часа. Сильно гемолизированные, мутные или липемичные образцы не рекомендуются к использованию для определения гомоцистеина.

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя.

Стабильность в сыворотке/плазме	4 дня при 15-25°C несколько недель при 2-8°C несколько месяцев или лет при (-15)-(-25)°C
---------------------------------	--

Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Протокол измерения

Для оптимального проведения исследования следуйте указаниям данного документа. Ознакомьтесь с инструкцией оператора для анализатора, указанного в инструкции. Использование протокола измерения, не подтвержденного Roche, не гарантирует корректного результата и должно определяться потребителем.

Протокол измерения для плазмы/сыворотки cobas c 111 system

Режим измерения Оптическая плотность

Режим расчёта Кинетика

Направление реакции Уменьшение

Длины волн A/B 340/378 нм

Точки измерения: первая/последняя 126/33

Единицы измерения мкмоль/л

Последовательность дозирования R1/R2-S-SR

Параметры дозирования

Плазма/сыворотка

Дилуэнт (H₂O)

R1 150 мкл

R2 23,25 мкл

Образец 12,0 мкл

SR 15,5 мкл

Общий объём 200,75 мкл

Калибровка

Калибратор

HCY Calibrator Kit

Для разведения серии с фактором 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 и 18.0 используйте дилуэнт NaCl 9%

Режим калибровки Logit/log5

Интервал калибровки Каждый лот, каждые 7 дней, по результатам контроля качества.

Контроль качества

Плазма/сыворотка

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы.

Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Пересчёт

Анализатор cobas c 111 автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце.

Факторы, влияющие на результаты

Критерий: Восстановление в пределах $\pm 10\%$ от начального значения гомоцистеина

Иктеричность

Не оказывает значимого влияния до значения концентрации 40 мг/дл для конъюгированного и неконъюгированного билирубина.

Гемолиз	Не оказывает значимого влияния до значения концентрации 500 мг/дл гемоглобина.
Липемия	Не оказывает значимого влияния до значения концентрации 1000 мг/дл триглицерида.
Лекарственные препараты	Следующие вещества, обычно присутствующие в сыворотке, служат причиной 10% отклонения, когда определяются в установленных концентрациях: 500 $\text{О} \mu\text{моль/л}$ NH_4Cl , 1 ммоль/л NaPi , 1 ммоль/л NaF , 0,5 ммоль/л глутатион, 10 ммоль/л аскорбиновая кислота, 1 ммоль/л L-цитин, 20 $\text{О} \mu\text{моль/л}$ S-аденозилметионин (SAM), 100 $\text{О} \mu\text{моль/л}$ аденозин, 100 $\text{О} \mu\text{моль/л}$ цистатинин. Пациенты, принимающие метотрексат, карбамазепин, фенитоин, азотистую кислоту, антиконвульсанты, или 6-азуридин триаценат, могут иметь завышенный уровень гомоцистеина, по причине влияния на метаболизм гомоцистеина. Добавление 3-дезадеозина задерживает синтез гомоцистеина в эритроцитах.

Дополнительная промывка
Не требует специальной промывки

Измеряемый интервал

Сыворотка, плазма	2,8 – 50 $\mu\text{моль/л}$
Фактор разведения	2
Нижний предел обнаружения	2,8 $\mu\text{моль/л}$

Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше нулевого образца.

Ожидаемые результаты

Сыворотка/плазма	
женщины	5-12 $\mu\text{моль/л}$
мужчины	5-15 $\mu\text{моль/л}$

Каждая лаборатория должна учитывать возможное несоответствие ожидаемых значений и значений, измеренных в популяции обследованных пациентов, и, если необходимо, устанавливать свои собственные пределы

В диагностических целях значения, полученные при тестировании, всегда должны быть оценены в связи с историей болезни пациента, клиническими обследованиями и другими анализами.

Точность определения

Воспроизводимость результатов была определена следующим образом: один образец сыворотки содержал 15,6 $\mu\text{моль/л}$ гомоцистеина и два контрольных материала содержащих 7,0 и 29,0 $\mu\text{моль/л}$ гомоцистеина были протестированы 12 раз в течение 1 дня ($n=12$). Для определения неточности между днями, образцы, приведенные выше, были протестированы 2 раза в день в течение 5 дней ($n=30$).

Были получены следующие результаты:

	<i>Среднее, мкмоль/л</i>	<i>SD внутри серии, %</i>	<i>CV общее, %</i>
<i>Образец</i>	15,6	2,04	1,90
<i>Контроль №1</i>	7,0	1,65	3,19
<i>Контроль №2</i>	29,0	1,16	1,22

Сравнение методов

Значения гомоцистеина в сыворотке людей, полученные на анализаторе cobas c 111, сравнивались с подобной методикой. Значения составляли 3,23 – 43,6 мкмоль/л.

Линейная регрессия результатов сравнения приведены ниже:

n=40

Slope 1,05

Коэффициент корреляции 0,993

Ссылки

1. Eikelboom JW, et al. Ann Intern Med 131: 363-75 (1999).
2. Scott J, Weir D. Q J Med 89: 561-3 (1996).
3. Nygard O, N Engl J Med 337(4): 230-6 (1997).
4. Seshadri S et al. N Engl J Med 346: 477-483 (2002).
5. McLean R et al. N Engl J Med 350: 2042-2049 (2004).
6. Refsum H. Clinical Laboratory News May 2002, pp 2-14.
7. Guttormsen AB et al. J Nutr 124(10):1934-41 (1994).
8. Vilaseca MA, Moyano D, Ferrer I, Artuch R. Total Homocysteine in Pediatric Patients. Clinical Chemistry 43: 690-692, 1997.
9. FaureDelanef L, Quere I, Chasse JF, Guerassimenko O, Lesaulnier M, Bellet H, Zittoun J, Kamoun P, Cohen D. Methylenetetrahydrofolate reductase thermolabile variant and human longevity. American Journal of Human Genetics 60 (4): 999-1001 April, 1997.

COBAS and COBAS C are trademarks of Roche.

Other brand or product names are trademarks of their respective holders.

©2008 Roche Diagnostics.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:
Этанол (Ethanol Gen.2 cobas c system (ETOH2))

Этанол (ЕТОН2)

Кобас с системы

cobas c systems

cobas c 111

Информация о реагентах

Этанол cobas c 111	2x50 тестов	Номер по каталогу 05401623190
Аммиак/этанол/CO2 калибратор	2x4 мл	Номер по каталогу 20751995190 Код 688
Аммиак/этанол/CO2 контроль норма	5x4 мл	Номер по каталогу 20752401190 Код 100
Аммиак/этанол/CO2 контроль паталогия	5x4 мл	Номер по каталогу 20753009190 Код 101

Предписание для использования

Набор реагентов для количественного определения *in vitro* концентрации этанола в сыворотке, плазме и моче на анализаторе cobas c 111.

Теоретическое обоснование

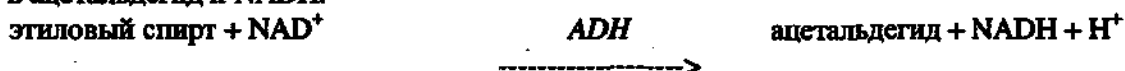
Определение этилового спирта один из самых распространенных анализов, необходимых в судебной и клинической токсикологической лаборатории. Оно используется для диагностики и лечения алкогольной интоксикации и отравлений.

Первоначальные методики для определения алкоголя использовали дистилляцию, аэрацию или диффузию для выделения алкоголя из плазмы. Дистиллированный алкоголь измерялся окислением с помощью сильного окислителя. Однако у этого метода не было специфичности, так как другие окисляемые соединения могли также быть продистиллированы и реагировать в реакционной смеси. Наряду со многими допустимыми методами, включая газовую хроматографию и осмометрические методы, ферментативная методика, основанная на работах Buher и Redetzki, специфична и проста в выполнении.

Принцип метода

Ферментативный метод с алкоголь дегидрогеназой.

Этиловый спирт и NAD при участии алкоголь дегидрогеназы (ADH) превращаются в ходе реакции в ацетальдегид и NADH.



Формирование в ходе реакции NADH измеряется фотометрически. Изменение оптической плотности прямо пропорционально концентрации этилового спирта.

Реагенты

Готовы к использованию.

R1 Буфер, консерванты

SR NAD (дрожжи): >3 ммоль/л; ADH (дрожжи): >617 мккат/л (37 Е/мл);
стабилизаторы, консерванты

Меры предосторожности и предупреждения

Только для *in vitro* диагностики

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.

Любой остаток реагента должен быть удалён после рекомендуемого срока использования его на борту анализатора (см. ниже).

Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение и стабильность реагентов

Хранение при 2-8°C

Смотрите срок годности на упаковке

В приборе при использовании холодильника
анализатора

4 недели

Сбор и подготовка образцов

Не используйте спирт или другие быстро испаряющиеся дезинфицирующие вещества в месте венепункции. Используйте водный раствор Zephiran (хлорид бензалкония), водный раствор Merthiolate (тимеросал) или водный повидон.

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Сыворотка

Плазма. Li-гепариновая и K₂-EDTA плазма

Моча Любые образцы мочи можно использовать

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя.

Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Стабильность

Сыворотка/плазма	2 дня при 15-25°C
	2 недели при 2-8°C
	4 недели при (-15)-(-25)°C
	30 дней при 2-8°C
Моча	30 дней при 2-8°C
	4 недели при (-15)-(-25)°C

Протокол измерения

Для оптимального проведения исследования следуйте указаниям данного документа.

Ознакомьтесь с инструкцией оператора для анализатора, указанного в инструкции.

Использование протокола измерения, не подтвержденного Roche, не гарантирует корректного результата и должно определяться потребителем.

Важно: не оставляйте пробирки с образцами открытыми дольше чем на 5 минут. Результаты могут стать неверными, вследствие испарения спирта.

При использовании Ammonia/Ethanol/CO₂ калибратора не оставляйте флакон открытым более чем на 30 минут при температуре 15-25°C.

При использовании Ammonia/Ethanol/CO₂ контроля не оставляйте флакон открытым более чем на 1 час при температуре 15-25°C.

Протокол измерения для сыворотки, плазмы и мочи cobas c 111 system

Режим измерения	Оптическая плотность
Режим расчёта	Кинетика
Направление реакции	Возрастание
Длины волн A/B	340/659 нм
Точки измерения: первая/последняя	23/29
Единицы измерения	ммоль/л (г/л, мг/дл)
Последовательность дозирования	R1-S-SR
Параметры дозирования	

Дилуэнт (H₂O)

R1	50 мкл	
Образец	4 мкл	16 мкл
SR	50 мкл	
Общий объём	120 мкл	

Калибровка

Калибратор

Аммиак/Этанол/CO₂ калибратор

В качестве нулевого калибратора используйте деионизированную воду

Режим калибровки

Линейная регрессия

Интервал калибровки Каждый лот, по результатам контроля качества.
Стандартизация: метод стандартизован по отношению к первичному стандарту (NIST).

Контроль качества

Сыворотка/плазма/моча

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Пересчет

Анализатор cobas c 111 автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце.

Факторы пересчета:

$$\text{ммоль/л} \times 0,04608 = \text{г/л}$$

$$\text{ммоль/л} \times 4,608 = \text{мг/дл}$$

$$\text{г/л} \times 21,7 = \text{ммоль/л}$$

$$\text{г/л} \times 100 = \text{мг/дл}$$

Факторы, влияющие на результаты

Критерий: Восстановление в пределах $\pm 10\%$ от начального значения этанола 21,7 ммоль/л (0,99 г/л, 100 мг/дл)

Сыворотка/плазма

Иктеричность Не оказывает значимого влияния до значения 60 индекса I для конъюгированного и неконъюгированного билирубина (приблизительное значение конъюгированного и неконъюгированного билирубина: 1026 мкмоль/л (60 мг/дл)) .

Гемолиз Не оказывает значимого влияния до значения индекса H 800 (приблизительная концентрация гемоглобина: 497 мкмоль/л (800 мг/дл).

Липемия Не оказывает значимого влияния до значения 2000 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.

Медицинские препараты Не оказывает значимого влияния

В очень редких случаях моноклональная гаммопатия может привести к неправильным результатам.

Моча

Гипохлориды могут оказывать влияние.

Важно: Другие похожие спиртовые реагенты могут давать ложно завышенный результат в образцах, содержащих высокий уровень лактат дегидрогеназы и лактата, особенно в образцах, взятых посмертно.

Медицинские препараты Не оказывает значимого влияния

Дополнительная промывка

Не известно никаких влияний, требующих дополнительной промывки.

Измеряемый интервал

Сыворотка/плазма/моча 2,2 – 108 ммоль/л (0,10 – 4,98 г/л, 10,1–498 мг/дл)

Не используйте автоматический реанализ. Для реанализа используйте свежие образцы.

Расширенный диапазон измерения (расчетный)

Фактор разведения 3 (рекомендуемый)

Нижний предел обнаружения 2,2 ммоль/л (0,10 г/л, 10,1 мг/дл)

Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше нулевого образца.

Ожидаемые значения

Сыворотка/плазма/моча

замедленный отклик, ослабление 10,9 – 21,7 ммоль/л (0,5 – 1 г/л, 50 – 100 мг/дл)

зрения

угнетение центральной нервной > 21,7 ммоль/л (>1 г/л, >100 мг/дл)

системы

смертельная доза >86,8 ммоль/л (> 4 г/л, > 400 мг/дл)

Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут отличаться. В диагностических целях значения, полученные при тестировании, всегда должны оцениваться в учётом истории болезни пациента, клиническими обследованиями и другими анализами.

Точность

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии n = 21; общее n = 30). Были получены следующие результаты:

Сыворотка/плазма

Внутри серии	Среднее ммоль/л (г/л, мг/дл)	SD ммоль/л (г/л, мг/дл)	CV %
Контроль норма	11,5 (0.53, 53.0)	0,18 (0.01, 0.83)	1,55
Контроль патология	33,2 (1.53, 153)	0,42 (0.02, 1.94)	1,27
Сыворотка 1	14,7 (0.68, 67.7)	0,47 (0.02, 2.17)	3,18
Сыворотка 2	65,2 (3.00, 300)	1,80 (0.08, 8.29)	2,77
Всего	Среднее ммоль/л (г/л, мг/дл)	SD ммоль/л (г/л, мг/дл)	CV %
Контроль норма	11,6 (0.53, 53.0)	0,38 (0.02, 1.75)	3,30
Контроль патология	34,0 (1.57, 157)	0,41 (0.02, 1.89)	1,20
Сыворотка 3	15,0 (0.69, 69.1)	0,61 (0.03, 2.81)	4,09
Сыворотка 4	66,8 (3.08, 308)	1,12 (0.05, 5.16)	1,67

Моча

Внутри серии	Среднее ммоль/л (г/л, мг/дл)	SD ммоль/л (г/л, мг/дл)	CV %
Контроль норма	11,2 (0.52, 51.6)	0,23 (0.01, 1.06)	2,07
Контроль патология	32,8 (1.51, 151)	0,49 (0.02, 2.26)	1,50
Моча 1	11,1 (0.51, 51.2)	0,23 (0.01, 1.06)	2,06
Моча 2	87,4 (4.02, 402)	1,864 (0.08, 7.56)	1,88

Сравнение методов

Значения этанола в сыворотке/плазме и моче людей, полученные на анализаторе cobas c 111(y), сравнивались с подобной методикой, используемой на анализаторе COBAS INTEGRA 400 (x).

Сыворотка/плазма (n=59)

Passing/Bablok

$$y = 1,0207x + 0,157 \text{ ммоль/л}$$

$$r = 0,981$$

Концентрация проб: 3,35 – 85,9 ммоль/л (0,15 – 3,96 г/л, 15,4 – 396 мг/дл).

Линейная регрессия

$$y = 1,028x + 0,222 \text{ ммоль/л}$$

$$r = 0,999$$

Ссылки

1. Kaplan LA, Pesce AJ. Clinical Chemistry Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis, MO: CV Mosby Co; 1984:1332-1334.
2. Bucher T, Redetzki H. Klin Wschr. 1951;29:615.
3. Proposed guidelines NCCLS: Blood Alcohol Testing in the Clinical Laboratory. NCCLS Vol. 8 No. 10. December 1988.
4. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1987:890.
5. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1995:224-225.
6. Levine B, Smith ML. Stability of drugs of abuse in biological specimens. Forensic Sci Rev 1990;2:148-156.
7. Garriott JC, ed. Medicolegal Aspects of Alcohol. 3rd ed. Tucson, AZ: Lawyers & Judges Publishing Co, Inc; 1996:262.
8. Nine JS, Moraca M, Virji MA, Rao KN. Serum ethanol determination: comparison of lactate and lactate dehydrogenase interference in three enzymatic assays. J Anal Tox. 1995; 19:192-196.
9. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
10. Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods", Breuer J, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
11. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

2008 Roche Diagnostics



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Д-димер (Tina-quant D-Dimer Gen.2 cobas c system)

Д-димер (D-DI)

cobas c systems

cobas c 111

Кобас с системы

Информация о реагентах

Tipa-quant Д-Димер cobas c 111	4x50 тестов	Номер по каталогу 05077753190
Д- димер калибратор и нулевой стандарт	1x0,5 мл 1x2,5 мл	Номер по каталогу 11556495216 Код 680
Д-димер контроль I/II	2x0,5 мл	Номер по каталогу 11556509216 Код 200/201
NaCl дилуэнт 9%	6 x 22 мл	Номер по каталогу 04774230190 Код 951

Предписание для использования

Набор реагентов для количественного иммунологического определения *in vitro* продуктов деградации фибрина (Д-димер и Х-олигомеры) в плазме на анализаторе cobas c 111.

Теоретическое обоснование

Тромбин превращает фибриноген в растворимый фибрин, расщепляя фибринопептиды А и В. Фибриновые мономеры полимеризируются спонтанно. Активный фактор XIII соединяет два Д-зоны и образует цельный фибриновый сгусток. Образуется новый плазмин-устойчивый антигенный детерминант (Д-димер). Таким образом формируются фрагменты, содержащие Д-димер, путем разложения фибрина плазмином.

Большая часть продуктов разложения фибрина содержит высокомолекулярные Х-олигомеры. Tipa quant набор для определения Д-димера имеет сильное сродство к высокомолекулярным продуктам разложения. Только *in vitro* или в течение лизисной терапии имеет место полное разложение до молекул Д-димеров.

Д-димер очень чувствительный маркер активности коагуляции. При значениях Д-димера ниже нижней границы нормы, глубокий венозный тромбоз (DVT) нижних конечностей и эмболия легочной артерии (PE) исключается с высокой долей вероятности.

В случае обширного внутрисосудистого свертывания крови (DIC)/туберкулезной коагулопатии продукты деградации фибрина служат чувствительными маркерами. Мониторинг продуктов фибрина специфичного разложения можно использовать при:

- подтверждении или опровержении предварительного диагноза
- оценки потенциального риска для пациентов с обширным внутрисосудистым свертыванием крови
- контроле лечения

Кроме DVT, PE и DIC, Д-димер отражает другие причины, связанные с образованием фибринового сгустка, такие как травма, осложнения при беременности, злокачественные болезни или сосудистые аномалии. Увеличение уровня Д-димеров в следствии этого можно интерпретировать в контексте возможных основных болезней и симптомов.

Принцип метода

Иммунотурбидиметрический метод с латексным усилением.

Латексные частицы одинакового размера покрыты моноклональными антителами (F(ab')₂ фрагменты) к эпитопу Д-димера. Комплекс антиген-антитело образуется добавлением образца, содержащего Д-димер, и ведет к увеличению оптической плотности реакционной смеси. Изменение оптической плотности во времени зависит от концентрации эпитопов Д-димеров в образце. Преципитат определяется иммунотурбидиметрически.

Реагенты

Готовы к использованию.

Реагент R2 необходимо помешивать каждый день во избежание выпадения осадка. Это осуществляется полуавтоматически анализатором после считывания баркода.

R1 ТРИС/HCl буфер: 370 ммоль/л, pH: 8,2; NaCl: 267 ммоль/л

Меры предосторожности и предупреждения**Только для *in vitro* диагностики**

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.

Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение и стабильность реагентов**Д-Димер**

Хранение при 2-8°C

Смотрите срок годности на упаковке

В приборе при использовании холодильника
анализатора

4 недели

Сбор и подготовка образцов

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Плазма.

Цитратная плазма. Для сбора венозной крови используйте стандартные пробирки для clotting тестов; используйте стерильный 0,11 молярный раствор цитрата натрия. Придерживайтесь точно соотношению 1 часть цитрата натрия на 9 частей крови. Сразу же после сбора крови, тщательно перемешайте образец, избегая вспенивания.

Li-гепариновая плазма. В отличие от использования цитратных пробирок, образцы не разодятся в гепариновых пробирках. Поэтому значение Д-димеров гепариновой плазме в среднем на 19% выше измерительного диапазона. Однако, используя подходящие значения калибратора и контроля, получаются результаты идентичные значениям в образцах с обоими видами материалов

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя.

Разморозьте замороженные образцы полностью при 37°C и тщательно перемешайте. Оставьте при комнатной температуре на 15 минут перед использованием, затем сразу проводите исследование.

Повторной заморозке образцы для коагуляционного анализа не подлежат.

Используйте не разведенные образцы.

Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Стабильность**Плазма**

8 часов при 15 - 20°C

4 дня при 2 - 8°C

6 месяцев при (-15)-(-25)°C

Протокол измерения

Для оптимального проведения исследования следуйте указаниям данного документа.

Ознакомьтесь с инструкцией оператора для анализатора, указанного в инструкции.

Использование протокола измерения, не подтвержденного Roche, не гарантирует корректного результата и должно определяться потребителем.

Протокол измерения для плазмы cobas c 111 system

Режим измерения

Оптическая плотность

Режим расчёта

Конечная точка

Направление реакции

Возрастание

Длины волн A/B

659 nm

Точки измерения: первая/последняя

7/19

Единицы измерения

мкг FEU^a/мл

Последовательность дозирования

R1-R2-S

^a Фибриноген эквивалентная единица.

Параметры дозирования

Дилуэнт (H₂O)

R1	90 мкл	
R2	90 мкл	
Образец	5 мкл	10 мкл
Общий объем	195 мкл	

Калибровка

Калибратор	Д-димер калибратор Д-димер калибратор в ручную разводится с нулевым стандартом. Ознакомьтесь с инструкцией к калибратору для разведения калибратора
Режим калибровки	Logit/Log4
Интервал калибровки	Каждый лот, каждые 6 месяцев при использовании одного и того же лота реагента, по данным контроля качества. Калибратор должен быть размещен в обозначенных позициях на анализаторе: в первой позиции калибратор с самой высокой концентрацией и с самой низкой в последней позиции.

Стандартизация: метод стандартизован по отношению к асерахромному Д-димера методу.

Контроль качества

Плазма

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Пересчет

Анализатор sobas c 111 автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце.

Факторы пересчета:

$$\text{мк FEU/мл} = \text{мг FEU/л}$$

$$\text{мк FEU/мл} * 1000 = \text{нг FEU/мл}$$

Факторы, влияющие на результаты

Критерий: Восстановление в пределах $\pm 10\%$ от начального значения.

Плазма

Иктеричность	Не оказывает значимого влияния.
Гемолиз	Не оказывает значимого влияния до значения индекса H 300 (приблизительная концентрация гемоглобина 186 мкмоль/л (300 мг/дл)).
Липемия	Не оказывает значимого влияния до значения 350 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.
Лекарственные препараты	Не оказывают значимого влияния.
Другое	Высокая концентрация Д-фрагментов, которые могут возникнуть при лизисной терапии, приводят к угнетению измерения. В очень редких случаях моноклональная гаммопатия может привести к неправильным результатам.

Дополнительная промывка

Неизвестно никаких влияний, требующих дополнительной промывки.

Измеряемый интервал

Плазма	0,1 - 9,0 мг FEU/мл
Расширенный диапазон измерения (расчетный)	
Фактор разведения	6 (рекомендуемый)
Нижний предел обнаружения	0,1 мг FEU/мл

Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трех стандартных отклонениях выше нулевого образца.

Ожидаемые значения

Плазма

$<0,50$ мкг фибриноген эквивалентных единиц/мл (мг FEU/мл)

Определение фибриногенного эквивалента основывается на количестве фибриногена используемого в приготовлении оригинального асерахромного стандарта.

Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут отличаться. В диагностических целях значения, полученные при тестировании, всегда должны оцениваться в учётом истории болезни пациента, клиническими обследованиями и другими анализами.

Точность

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии $n = 21$; всего $n = 30$). Были получены следующие результаты:

Плазма

Внутри серии	Среднее мкг FEU/мл	SD мкг FEU/мл	CV %
Контроль 1	0,85	0,01	1,67
Контроль 2	4,10	0,03	0,82
Плазма 1	0,41	0,02	5,11
Плазма 2	4,30	0,03	0,72
Всего	Среднее мкг FEU/мл	SD мкг FEU/мл	CV %
Контроль 1	0,81	0,04	4,36
Контроль 2	3,98	0,08	2,13
Плазма 3	0,38	0,02	5,78
Плазма 4	4,19	0,08	1,88

Сравнение методов

Значения Д-димера в цитратной плазме людей, полученные на анализаторе cobas c 111(y), сравнивались с подобной методикой, используемой на анализаторе COBAS INTEGRA 400 (x).

Сыворотка/плазма ($n=63$)

Passing/Bablok

Линейная регрессия

$$y = 1,004x - 0,022 \text{ мкг FEU/мл}$$

$$y = 1,000x - 0,0036 \text{ мкг FEU/мл}$$

$$r = 0,9697$$

$$r = 0,998$$

Концентрация проб: 0,141– 7,98 мкг FEU/мл.

ССЫЛКИ

1. Gaffney PJ. Fibrinolysis Supplement 2. 1993;7:2-8.
2. Fibrinogen 4. Current basic and clinical aspects. Matsuda M et al. Amsterdam/New York/Oxford: Elsevier Science Publishers, 1990:43-8.
3. Agency for Healthcare Research and Quality, Evidence Report / Technology Assessment Number 68: Diagnosis and Treatment of Deep Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism: Summary. AHRQ Pub No. 03-E012, January 2003. Full report available online at www.ahrq.com
4. American College of Emergency Physicians Board of Directors. Clinical Policy: Critical Issues in the Evaluation and Management of Adult Patients Presenting with Suspected Lower-Extremity Deep Venous Thrombosis. *Ann. Em. Med* 2003; 42:1,124.
5. Ramzi DW, Leeper KV. DVT and Pulmonary Embolism: Part 1, Diagnosis. *Am. Fam. Phys.* 2004. 69:12, 2829.
6. American College of Emergency Physicians Board of Directors. Clinical Policy: Critical Issues in the Evaluation and Management of Adult Patients Presenting with Suspected Pulmonary Embolism. *Ann. Em. Med* 2003; 41:257.
7. Schutgens REG, Ackermack P, Haas FJLM, Nieuwenhuis HK, Peltenburg HG, Pijlman AH, et al. Combination of a Normal D-Dimer Concentration and a Non-High Pretest Clinical Probability Score is a Safe Strategy to Exclude Deep Venous Thrombosis. *Circulation* 2003; 107:593.
8. Schutgens RE, Haas FJ, Biesma DH. Reduced efficacy of clinical probability score and D-Dimer assay in elderly subjects suspected of having deep vein thrombosis. *Br. J. Haemat.* 2005; 129, 653.
9. LeClerq LGL, Lusitan JG, Kooy MvM, Kuipers BF, Oostjodik AHJ, van der Leur, JJCM, Builler HR. Ruling out clinically suspected pulmonary embolism by assessment of clinical probability and D-Dimer levels: a management study. *Thromb Haemost* 2003; 89,97.
10. Huisman MV et al for the Christopher Study Investigators. Effectiveness of managing suspected pulmonary embolism using an algorithm combining clinical probability, D-dimer testing, and computed tomography. *JAMA* 2006; 295:2, 172.
11. Knecht MF, Heinrich F. Clinical Evaluation of an Immunoturbidimetric D-Dimer Assay in the Diagnostic Procedure of Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism. *Thromb. Res.* 1997; 88. 413.
12. Janssen MCH, Heebles AE, deMetz M, Verbruggen H, Wollersheim H, Janssen S et al. Reliability of Five Rapid D-Dimer Assays Compared to ELISA in the Exclusion of Deep Venous Thrombosis. *Thromb. Haemost.* 1997; 7,2: 262.
13. Lindahl TL, Lundahl TH, Fransson SG. Evaluation of an automated micro-latex D-Dimer assay (Tina-quant on Hitachi 911) in symptomatic outpatients. *Thromb. Haemost.* 1999; 82, 6:1772.
14. Van der Graaf F, van den Borne H, van der Kolk M, de Wild PJ, Janssen GWT, van Uum SMH. Exclusion of Deep Venous Thrombosis with D-Dimer Testing: Comparison of 13 D-Dimer methods in 99 outpatients Suspected of Deep Venous Thrombosis using Venography as Reference Standard. *Thromb.Haemost.* 2000; 83: 191.
15. Funfsinn N, Caliezi F, Biasutti FD, Korte W, et al. Rapid D-Dimer testing and pre-test clinical probability in the exclusion of deep venous thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12: 165.
16. Diamond S, Goldbweber R, Katz S. Use of D-Dimer to aid in excluding deep venous thrombosis in ambulatory patients. *Am. J. Surg.* 2005; 189, 23.
17. Schutgens RE, Haas FJ, Gerritsen WB, van der Horst F, Nieuwenhuis HK, Biesma DH. The usefulness of five D-Dimer assays in the exclusion of deep venous thrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1. 976.
18. Stolba R, Lenglinger FX, Rezanka E, Wider G. Diagnostic Value of a new, quantitative D-Dimer assay for the exclusion of pulmonary embolism in symptomatic patients. *J Lab Med* 2000; 24 (3): 153-157.
19. De Monye W, Sanson B-J, Bueller HR, Pattynama PMT, Huisman MV, ANTELOPE study group. The performance of two rapid quantitative D-Dimer assays in 287 patients with clinically suspected pulmonary embolism. *Thromb Res* 2002; 107:283.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

[Signature] Г.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Детергент (Hitergent cobas c systems (HIT-D))

Детергент

Roche/Hitachi cobas c systems
cobas c 311

Кобас c системы

Информация о реагентах

Детергент

50 мл*

Номер по каталогу 04912756190

*Значение, указанное в настройках анализатора, равно 44 мл для учета «мертвого» объема флакона

Назначение

Детергент используется в качестве добавки в реакционную баню для устранения поверхностного натяжения и «цветения» воды в анализаторе cobas c311.

Описание

Детергент представляет собой бактериостатический детергент, автоматически добавляется в реакционную баню. Он действует как суфрактант, минимизирует образование пузырьков, которые могут влиять на показания считывания фотометра.

Реагенты

Готовы к использованию

Меры предосторожности

Только для in vitro диагностики

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.

Любой остаток реагента должен быть удалён после рекомендуемого срока использования его на борту анализатора (см. ниже).

Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение реагента

Не вскрытый флакон можно хранить при 15-25°C до окончания срока годности, указанного на упаковке

На борту анализатора (в холодильнике): 28 дней

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA, PRECINORM и PRECIPATH являются торговыми марками Roche.

Другие наименования продуктов являются торговыми марками их владельцев.

©2009 Roche Diagnostics.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Липаза (Lipase (colorimetric) cobas c system (LIPC))

Липаза (Колориметрический метод)

LIPASE (LIPC)

Информация о реагентах

Липаза Cobas с 111 2х50 тестов Номер по каталогу 05401704190
Калибратор CFAS. 12х3 мл Номер по каталогу 10759350190 Код 401
Контроль норма PNU. 20х5 мл Номер по каталогу 10171743122 Код 300
Контроль патология PPU 20х5 мл Номер по каталогу 10171778122 Код 30

Предписание для использования

Набор реагентов " Липаза (колориметрический тест) " содержит диагностическую систему реагентов *in vitro*, предназначенную для использования на анализаторах cobas с 111 с целью количественного определения каталитической активности липазы

(триацилглицеролацилгидролаза КФ 3.1.1.3) в сыворотке и плазме

Теоретическое обоснование

Липазы – гликопротеины с молекулярным весом 47 000 Д. Они определяются как гидролазы триглицеридов, которые катализируют расщепление триглицеридов до диглицеридов с последующим образованием моноглицеридов и жирных кислот. Наряду с α -амилазой определение активности липаз поджелудочной железы в течение многих лет неоспоримо считается наиболее важным параметром клинической химии для дифференциального диагноза заболеваний поджелудочной железы. Определение активности липазы находит все большее международное признание в силу своей специфичности и быстроты ответа. После острых панкреатитов активность липазы увеличивается в течение 4-8 часов и достигает максимума к 24 часам, а снижается через 8–14 дней. Однако не существует корреляций между активностью липазы сыворотки и степенью повреждения поджелудочной железы. Существует много методов для определения активности липазы, в которых ее оценивают либо по убыли субстрата турбидиметрически или нефелометрически, либо по продуктам реакции.

Этот метод основан на расщеплении липазой специфического хромогенного субстрата – эфира 1,2-О-дилаурил-рак-глицеро-3 глутаровой кислоты –(6-метил-резорифин), эмульгированного желчными кислотами. Активность фермента поджелудочной железы определяется только в комбинации с желчными кислотами и колипазой.

Метод

Колориметрическое определение ферментативной активности с использованием в качестве субстрата эфира 1,2-О-дилаурил-рак-глицеро-3 глутаровой кислоты –(6-метил-резорифина).

Принцип метода

В результате каталитического действия липазы в щелочной среде хромогенный субстрат липазы - эфир 1,2-О-дилаурил-рак-глицеро-3 глутаровой кислоты –(6-метил-резорифин) расщепляется с образованием 1,2-О-дилаурил-рак-глицероля и нестабильного интермедиата, эфира глутаровой кислоты –(6-метил-резорифина). Последнее соединение спонтанно распадается в щелочной среде с образованием глутаровой кислоты и метилрезорифина. Добавление детергента и колипазы увеличивает специфичность определения липазы поджелудочной железы. Фактически, в отсутствии колипазы активность липазы не определяется. Колипаза активирует только липазу поджелудочной железы, и не действует на другие ферменты сыворотки. Высокое количество холатов

лишает все другие эстеразы сыворотки возможности реагировать с хромогенным субстратом вследствие формирования отрицательного поверхностного заряда.

Эфир 1,2-О-дилаурил-рак-глицеро-3 глутаровой кислоты –(6-метил-резорурфин) → 1,2-О-дилаурил-рак-глицероля + эфира глутаровой кислоты –(6-метил-резорурфина) → глутаровая кислота + метил-резорурфин

Интенсивность красного окрашивания прямо пропорциональна каталитической активности липазы. Она определяется по увеличению поглощения при 583 нм.

Реагенты

R1 Буфер, колипаза и холат в вials A (жидкость).
R2=SR Хромогенный субстрат в вials C (жидкость).

Активные ингредиенты:

Компоненты	Концентрации		Тест	
	R1	SR		
BICIN	50		27	ммоль/л;
Колипаза (из поджелудочной железы свиньи)	≥1		≥0,53	ммоль/л;
Хлорид кальция	10		5,3	ммоль/л;
Тартратовый буфер		10	3,2	ммоль/л;
Дезоксихолат натрия	1,6		0,85	ммоль/л;
Эфир 1,2-О-дилаурил-рак-глицеро-3 глутаровой кислоты –(6-метил-резорурфин)		0,27	0,09	ммоль/л;
Тауродезоксихолат		8,8	2,8	ммоль/л;
pH	8,0	4,0	7,9	

Реагент SR содержит неакционноспособный детергент и стабилизаторы.

Пожалуйста, смотрите на маркировку емкостей с реагентами.

Меры предосторожности и предупреждения

Только для in vitro диагностики

Обращайте внимание на все предостережения и предупреждения на упаковке

Хранение и стабильность реагентов

На полке при 2-8°C

Смотри срок годности упаковки

В приборе при использовании (10-15°C)

4 недели;

Сбор и подготовка образцов

Сыворотка, плазма.

Единственным приемлемым антикоагулянтом является Li-гепарин.

Са-связывающие антикоагулянты такие, как ЭДТА, цитрат и флуорид влияют на определение и не должны использоваться.

Сбор и подготовка образцов

Сыворотка, плазма без гемолиза.

Единственный приемлемый антикоагулянт - гепарин.

Следует избегать использования антикоагулянтов флуорида и нодоацетата вследствие присущей им гемолитической активности. Цитрат натрия и ЭДТА подавляют активность фермента и тоже не могут быть использованы.

Стабильность:	1 неделя при 15-25 °С
	1 неделя при 2-8 °С
	1 год при -20 °С

Факторы, влияющие на результаты

Сыворотка, плазма

Гемолиз	Нет значимого влияния
Желтуха	Нет значимого влияния.
Липидемия	Нет значимого влияния.
Антикоагулянты	ЭДТА, цитрат и флуорид должны быть исключены.

Определение калибраторов

Калибратор	калибратор ф.а.с. Используйте деионизованную воду как нулевой калибратор (автоматическая функция анализатора).
------------	--

Интервал калибровки	Каждый лот
---------------------	------------

Определение контролей

Ряд сравнения	Точное значение нормы Ед. плюс или точное значение нормы Ед.
Пределы для патологии	Точное значение при патологии Ед. плюс или точное значение при патологии Ед.
Интервал для контроля	Рекомендован 24 часа
Последовательность контроля	Определяется пользователем
Контроль после калибратора	Рекомендован

Ожидаемые уровни (норма)

Взрослые	13 – 60 Ед./л	(0,22 - 1,00 мккат/ л);
----------	---------------	-------------------------

Чтобы сравнить полученные данные со стандартным рядом сравнения для липазы, активность которой измерена турбидиметрическим методом, умножьте полученные результаты (в Ед./л, или в мккат/ л) на фактор 3,2, чтобы получить приближенные значения. Рекомендуется каждой лаборатории установить и ориентироваться на свои собственные стандартные ряды. Уровни активности, указанные здесь, должны быть использованы как ориентировочные.

В диагностических целях значения, полученные при тестировании, всегда должны быть оценены в связи с историей болезни пациента, клиническими обследованиями и другими анализами.

Аналитическая чувствительность (нижний предел определения)
3,0 Ед./л (0,05 мккат/л)

Нижний предел определения представляет собой минимально измеряемую активность липазы, отличную от нуля. Он считается по трем стандартным отклонениям 30 реплик нулевого образца.

Линейность измерения

3-300 Ед/л. В случае превышения этого предела, прибор автоматически разводит пробу в 10 раз.

Точность определения

Воспроизводимость определялась, используя образцы сыворотки человека и контроли (внутри серии n=20, в течение дня n=31). Были получены следующие результаты.

Внутри ряда	Среднее	SD	CV
	Ед/л	Ед/л	%
Precinorm U	46,1	0,57	1,25
Precipath U	80,0	0,62	0,78
Сыворотка №1	49,6	0,49	0,99
Сыворотка №2	248	2,30	0,93

Ежедневный контроль	Среднее	SD	CV
	Ед/л	Ед/л	%
Precinorm U	49,0	1,10	2,24
Precipath U	82,9	1,82	2,20
Сыворотка №3	50,3	1,30	2,59
Сыворотка №4	264	5,0	1,89

Издание: август 2007



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики

ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

С-реактивный белок (Tina-quant C-Reactive Protein Gen.3 (CRPL3)

Roche/Hitachi)

С-реактивный белок (Tina-quant C-Reactive Protein Gen.3 (CRPL3) cobas c systems)

C-реактивный белок

Информация о реагентах

• Обозначены Roche/Hitachi анализаторы, на которых данный набор может использоваться

Кат.№	Флакон	Объем	902	912	917	Modular	
						P	D
04956885190	1	6x20 мл	•	•	•	•	
	2	6x10 мл					
04956923190	1	6x63 мл			•	•	
	2	6x33 мл					
04995414190	1	4x235 мл				•	
	2	4x116 мл					•

Калибратор C.f.a.s. (Calibrator for

Кат.№ 11355279216

automated systems) Proteins

Контроль Precinorm Proteins 3 x 1.0 мл

Кат.№ 10557897122

Precipath Proteins 3 x 1.0 мл

Кат.№ 11333127122

Дилуэнт NaCl 9%

Назначение набора

Предназначен для количественного определения C-реактивного белка в сыворотке и плазме человека иммунотурбидиметрическим методом на автоматических биохимических анализаторах Roche/Hitachi.

Клиническое значение и физиологическая функция

C-реактивный белок является классическим белком острой фазы при воспалительных реакциях. Он синтезируется в печени и содержит 5 одинаковых полипептидных цепей, сформированных в кольцо из 5 звеньев, молекулярной массой 105000 Дальтона. C-реактивный белок – самый чувствительный маркер острой фазы, его концентрация быстро увеличивается при воспалительном процессе. Комплекс СРБ активирует каскад комплемента по классическому пути. Отклик СРБ часто предшествует клиническим симптомам, включая лихорадку. В нормальном здоровом организме концентрации СРБ не более 5 мг/л. После наступления острой фазы концентрация СРБ в сыворотке увеличивается очень быстро и значительно. Увеличение концентрации начинается в течении 6-12 часов и достигает максимального значения в течении 24-48 часов.

Уровень СРБ более 100 мг/л в таких тяжелых случаях, как обширная травма или тяжелая инфекция (сепсис). Ответ СРБ может быть менее выраженным в случае пациентов, страдающих заболеваниями печени. Определение СРБ используется для определения системного воспалительного процесса; для определения лечения бактериальной инфекции антибиотиками; для определения внутриматочных инфекций с сопутствующим преждевременным разрывом амниона; для различения активной и неактивной форм заболевания с сопутствующими инфекциями, например в случае пациентов, страдающих от SLE или колита; для терапевтического мониторинга ревматизма и назначения противовоспалительной терапии; для определения наличия пост-операционных осложнений на ранних стадиях, таких как инфицированные раны, тромбоз и пневмония, и для различения инфекций и отторжения костного мозга. Постоперационный мониторинг уровня СРБ у пациентов может помочь распознать неожиданных осложнений (постоянно высокий или увеличивающийся уровень). Измерение изменений в концентрации СРБ содержит полезную диагностическую информацию о как остро и серьезно заболевание. Оно также позволяет определить происхождение заболевания. Постоянно высокий уровень в сыворотке концентрации СРБ обычно является серьезным прогностическим знаком, который показывает неконтролируемую инфекцию.

Принцип метода

Иммунотурбидиметрический метод (латексное усиление)

Реактивы

жидкие, готовые к употреблению

R1

ТРИС буфер с бычьим альбумином, консерванты

R2

Латексные частицы, конъюгированные с анти-СРБ (мышь) в глициновом буфере, иммуноглобулины (мышь), консерванты

Меры безопасности

Предназначается для диагностики in vitro.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Обращение с реактивами

Реагенты готовы к использованию.

Хранение и стабильность

Невскрытый флакон при 2 - 8°C:

См. срок годности на флаконе

После вскрытия при 2 - 8°C:

84 дней

Сбор и

Сыворотка:

подготовкаПлазма: Li-гепаринированная, K₂-/K₃-ЭДТА плазма**образцов**

Центрифугируйте образцы, содержащие включения перед проведением теста.

Стабильность

11 дней при 15-25°C

2 месяца при 2-8°C

3 года при (-15)-(-25)°C

Процедура проведения анализа

Для оптимального проведения анализа важно следовать указаниям по работе с используемым анализатором и проверить, имеется ли в системе достаточный запас аналитических материалов и других расходных материалов.

Калибровка**Калибратор**

Roche/Hitachi 902/Modular D:

S1: 0,9% NaCl

S2-5: Preciset Serum Proteins

Roche/Hitachi 912/917/Modular P:

S1: 0,9% NaCl

S2-5: Cfas Proteins

Умножьте лот-специфическое значение для Cfas Proteins калибратора на фактор, приведенный ниже, для определения стандартных концентраций для 6-точечной калибровочной кривой

S2: 0,10

S4: 1,00

S6: 4,00

S3: 0,40

S5: 2,00

Интервал калибровки

После смены лота реагента, по запросу процедуры контроля качества.

Метод был стандартизован по отношению к внутреннему методу CRM 470.

Контроль качества

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Расчет результатов

Анализатор автоматически вычисляет результаты концентрации СРБ в каждом образце.

Факторы пересчета:

мг/л x 9,52 = нмоль/л

мг/дл x 95,2 нмоль/л

мг/л x 0,1 = мг/дл

мг/дл x 10 = мг/л

мг/дл x 0,01 = г/л

г/л x 100 = мг/дл

Ограничения – интерференцияВоспроизводимость в пределах $\pm 10\%$ от начального значения**Иктеричность**

Не оказывает значимого влияния до значения 60 индекса I для конъюгированного и неконъюгированного билирубина (приблизительное значение конъюгированного и неконъюгированного билирубина – 1026 мкмоль/л (60 мг/дл)).

Гемолиз

Не оказывает значимого влияния до значения 1000 индекса H (приблизительное значение концентрации гемоглобина: 1000 мг/дл, 10000 мг/л, или 621 мкмоль/л)

Липемия

Не оказывает значимого влияния до значения 1000 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.

Ревматоидный фактор

Не оказывает значительного влияния до значения 1200 Е/мл

Эффект высокой дозы

Не оказывает значительного влияния до значения концентрации СРБ до 1200 мг/л (11424 нмоль/л)

Лекарственные препараты

При приеме лекарств в терапевтической дозе влияния не обнаружено.

Другие

Очень редкие случаи гаммапатий, в частности, макроглобулинемия Вальденстрема (типа IgM) могут вызвать получение недостоверных

Измеряемый интервал

результатов

0,3 – 350 мг/л (2,9 – 3333 нмоль/л)

Если полученная концентрация гаптоглобинов выходит за эти пределы, в ручную разведите образец 1+1 0,9% NaCl. Результат умножьте на фактор 2.

Ожидаемые результаты

Взрослые

< 5 мг/л (<47,6 нмоль/л)

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых (нормативных) результатов на популяцию собственных пациентов и, в случае необходимости, определить свои собственные нормативные диапазоны.

Результаты, полученные с использованием данного или любого другого диагностического набора, следует использовать и интерпретировать только в контексте общей клинической картины и результатов других диагностических исследований

Аналитические характеристики**Точность**

Воспроизводимость была определена с использованием образцов человеческой сыворотки и контролей (n-число исследованных образцов). Были получены следующие данные:

Образец	Внутри серии (n=21)			Между сериями (n=21)		
	Среднее, мг/л	SD, мг/л	CV, %	Среднее, мг/л	SD, мг/л	CV, %
Control Level 1	3,6	0,03	0,85	3,1	0,08	2,7
Control Level 2	42,2	0,26	0,61	41,4	0,86	2,1

Аналитическая чувствительность (нижний предел определения): 0,2 мг/л (1,9 нмоль/л)

Предел обнаружения представляет собой самую малую концентрацию СРБ, которая может быть обнаружена как отличная от нуля. Она вычислена как концентрация, лежащая на 3 стандартных отклонения выше низкого стандарта (низкий стандарт СРБ + 3 SD, воспроизводимость в пределах серии, n = 21).

Метод сравнения

Сравнение между Roche Tina-quant C-reactive Protein Gen.3 на анализаторе Roche/Hitachi 917 (y) с Roche Tina-quant CRP (Latex) на анализаторе Roche/Hitachi 917 (x) дало следующую корреляцию в человеческой сыворотке (мг/л)

Сыворотка (n=67)

Passing/Bablok

Линейная регрессия

y=1.020x - 0,0003

y=1.029x - 0,5043

p=0,9946

r=0,9998

Концентрация проб: 0,22 – 197 мг/л

Библиография

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995: 234–236.
- Thomas L. Labor und Diagnose, 7. Auflage, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, 2008: 1010–1021.
- Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2001: 332–333.
- Thomas L, Messenger M. Pathobiochemie und Labordiagnostik der Entzündung. Lab med 1993; 17: 179–194.
- Young B, Gleeson M, Cripps AW. C-reactive protein: A critical review. Pathology 1991; 23: 118–124.
- Wasunna A, Whitelaw A, Gallimore R, Hawkins PN, Pepys MB. C-reactive protein and bacterial infection in preterm infants. Eur J Pediatr 1990; 149: 424–427.
- Vergis N. Should CRP be used as a marker of infection in patients with liver cirrhosis? Clin Lab Int 2007; 6:12–13.
- Mackenzie I, Woodhouse J. C-reactive protein concentrations during bacteraemia: a comparison between patients with and without liver dysfunction. Intensive Care Medicine 2006; 32: 1344–1351.
- Price CP, Trull AK, Berry D, Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. J Immunol Methods 1987;99:205–211.
- Eda S, Kaufmann J, Roos W, Pohl S. Development of a new microparticle-enhanced turbidimetric assay for C-reactive protein with superior features in analytical sensitivity and dynamic range. J Clin Lab Anal 1998;12:137–144.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1. Rev. 2. Jan. 2002.

12. Baudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, Carlstrom A, Johnson AM, Milford-Ward A, Ritchie R, Svendsen PI, Whicher JT. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins. CRM470, Report EUR 15243 EN, 1993: 1-186.
13. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
14. Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods", Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
15. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001: 38: 376-385.
16. Dati F, Schumann G, Thomas L et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:517-520.
17. Bablok W et al. A general regression procedure for method transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Параметры настройки

Для анализаторов Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 и Modular введение параметров аппликации осуществляется через аппликационную дискету, баркоды.

Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	
1	Test Name	CRPL3
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End
3	Assay Code (2. Test)	0
4	Reaction Time	10
5	Assay Point 1	20
6	Assay Point 2	29
7	Assay Point 3	21
8	Assay Point 4	23
9	Wavelength (SUB)	800
10	Wavelength (MAIN)	570
11	Sample Volume	3.0
12	R1 Volume	250
13	R1 Pos.	
14	R1 Bottle Size	Small
15	R2 Volume	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	120
19	R3 Pos.	
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Spline
22	Calib. Type (Wght)	0

23	Calib. Conc. 1	0.00
24	Calib. Pos. 1	*****
25	Calib. Conc. 2	*****
26	Calib. Pos. 2	*****
27	Calib. Conc. 3	*****
28	Calib. Pos. 3	*****
29	Calib. Conc. 4	*****
30	Calib. Pos. 4	*****
31	Calib. Conc. 5	*****
32	Calib. Pos. 5	*****
33	Calib. Conc. 6	*****
34	Calib. Pos. 6	*****
35	S1 ABS	0
36	K Factor	0
37	K2 Factor	1000
38	K3 Factor	1000
39	K4 Factor	1000
40	K5 Factor	1000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	999
45	Duplicate Limit	100
46	Sens. Limit	5050
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000
48	S1 Abs. Limit (H)	32000
49	Abs. Limit	32000
50	Abs. Limit (D/I)	Increase
51	Prozone Limit	63
52	Proz. Limit (Upp/Low)	D
53	Prozone (Endpoint)	29
54	Expect. Value (L)	*****
55	Expect. Value (H)	*****
56	Instr. Fact. (a)	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0
58	Key setting	*****

..... Данные, вводимые оператором.

Roche Diagnostics
Редакция: 2009



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:
Контроль ЛПНП (sdLDL Control Set)

ХОЛЕСТЕРИН ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ

Информация о реагентах

LDL-Cholesterol plus 2nd generation R1

R2

Калибратор C.f.a.s. Lipids 3 x 1 мл

Контроль Precinorm® L 4 x 3 мл

Контроль Precipath® HDL/LDL-C 4 x 3 мл

NaCl Diluent 9% 6 x 22 мл

Cat. No. 05230438190

Cat. No. 05230446190

Cat. No. 12172623 122

Cat. No. 10781827 122

Cat. No. 11778552 122

Cat. No. 04489357 190

System-ID 07 6869 3

Может использоваться для анализаторов:

Назначение теста

LDL-cholesterol 2nd generation содержит систему реагентов для количественного определения *in vitro* концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП, LDL-Cholesterol) в сыворотке и плазме, предназначенную для использования в системах с Roche/Hitachi.

Клиническое значение

Липопротеиды низкой плотности (LDL) играют ключевую роль в возникновении и распространении атеросклероза, и, конкретно, при коронарном атеросклерозе. ЛПНП образуются от VLDL (липопротеидов очень низкой плотности с богатым содержанием триглицеридов) под действием различных липолизических ферментов и синтезируются печенью.

Элиминация ЛПНП из плазмы происходит главным образом паренхимальными клетками печени и через специфические рецепторы ЛПНП. Повышенная концентрация ЛПНП в крови и увеличение времени их существования связывается с увеличением их биологической модификации при деструкции эндотелиальной функции и более высоким захватом холестерина ЛПНП моноцит/макрофагальной системой, также как и гладкомышечными клетками - сосудистой - стенки. Основной холестерин, откладываемый в атеросклеротических бляшках, происходит из ЛПНП. Концентрация холестерина ЛПНП является наиболее сильным клиническим предиктором среди всех одиночных параметров, используемых при оценке коронарного атеросклероза. Следовательно, терапия, направленная на снижение концентрации липидов, первоначально нацелена на снижение холестерина ЛПНП. Эффективная терапия выражается в улучшении функции эндотелия, профилактике атеросклероза и уменьшении его прогрессирования, а также профилактике разрыва бляшки.

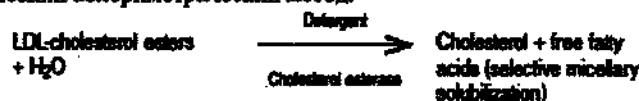
Для определения холестерина ЛПНП доступны различные методы, такие как ультрацентрифугирование - референтный метод, электрофоретическое разделение липопротеидов и методы преципитации. При использовании преципитации осаждают аполипопротеиды В, содержащие холестерин ЛПНП, например, с использованием поливинил сульфата, декстран сульфата или полициклических анионов. Концентрация ЛПНП обычно вычисляется как разность между общим холестерином и холестерином ЛПОНП и холестерином ЛПВП в супернатанте после осаждения с поливинил сульфатом и декстран сульфатом. Научно-исследовательские клиники по изучению липидов рекомендуют комбинацию ультрацентрифугирования и методов преципитации, использующих полианионы в присутствии двухвалентных катионов. Тем не менее, методы осаждения, трудоские, не подлежат автоматизации и подверженные влиянию гиперлипидемической сыворотки, особенно при высокой концентрации свободных жирных кислот. Более современный метод основан на определении холестерина ЛПНП после иммуноадсорбции и центрифугирования.

Этот автоматизированный метод для прямого определения холестерина ЛПНП имеет преимущество селективным мицеллярным растворением холестерина ЛПНП с помощью неионного детергента и взаимодействием сахарозного компонента и липопротеидов (ЛПОНП и хиломикрон). Когда детергент включается в ферментативный метод для определения холестерина (холестерин эстеразная, холестерин оксидазная фазы реакции), относительная реактивность холестерина увеличивается по липопротеидам в следующем порядке: ЛПВП < хиломикрон < ЛПОНП < ЛПНП. В присутствии Mg++ сахарозный компонент значительно снижает ферментативную реакцию определения холестерина в ЛПОНП и хиломикронах. Комбинация сахарозного состава с детергентом обуславливает выборочное определение холестерина ЛПНП в сыворотке. Результаты в пробах, полученных не натощак немного ниже, чем результаты после голодания. Этот прямой метод отвечает целям NCEP 1995 <4% общего CV, смещение ≤4% против референтного метода и ≤12% общей аналитической ошибки.

Вычисление концентрации холестерина ЛПНП обычно производят согласно формуле Фридевальд. Формула основана на 2-х определениях холестерина, 1-ом определении триглицеридов, а также этапа осаждения при определении ЛПВП и базируется на том, что существует прямая зависимость между холестерином ЛПОНП и триглицеридами в образцах крови, полученных после ночного голодания. Даже в присутствии небольших количеств хиломикронов или патологических липопротеидов, формула приводит к получению ложно заниженных концентраций ЛПНП. По этой причине существует необходимость простого и надежного метода для определения холестерина ЛПНП без любых подготовительных шагов или вычислений.

Принцип теста

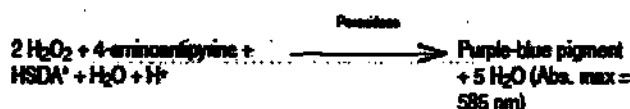
Гомогенный энзиматический колориметрический метод.



Эфиры холестерина ЛПНП расщепляются количественно холестеринэстеразой до холестерина и свободных жирных кислот.



В присутствии кислорода, холестерин окисляется холестериноксидазой до Δ^4 -холестерона и перекиси водорода.



* HSDA = Sodium N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-diaminopyridine

В присутствии пероксидазы, перекись водорода генерирует реакцию с 4-аминоантипирином и HSDA с формированием комплекса фиолетово-синего цвета. Интенсивность формирования окрашенного комплекса прямо пропорциональна концентрации холестерина и изменяется фотометрически.

Реагенты (рабочие растворы)

R1 MOPS буфер: 20,1 ммоль/л, pH 6,5; HSDA: 0,96 ммоль/л; аскорбат оксидаза:

≥50 мккат/л; пероксидаза: ≥167 мккат/л; консерванты

R2 MOPS буфер: 20,1 ммоль/л, pH 6,8; MgSO₄·7H₂O: 8,11 ммоль/л; 4-аминоантипирин: 2,46 ммоль/л;

холестеринэстераза: ≥50 мккат/л; холестериноксидаза: ≥33,3 мккат/л; пероксидаза: ≥334 мккат/л; детергент; консерванты.

Готовы к использованию.

Хранение и стабильность

LDL C

Хранение при 2-8°C «на полке»

До указанного на кассете срока годности

На борту холодильника анализатора

12 недель

NaCl 9%

Хранение при 2-8°C «на полке»

До указанного на кассете срока годности

На борту холодильника анализатора

12 недель

Сбор и подготовка материала для исследования

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Сыворотка.

Плазма: Li-гепарин. Использование ЭДТА приводит к более низким результатам.

Могут быть использованы образцы, взятые у пациентов как после ночного голодания, так и без него.

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя пробирок.

Стабильность:

сыворотка/плазма

7 дней при 2-8°C

30 дней при -70°C

Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Адаптации для плазмы и сыворотки COBAS C 501 system

Способ вычисления

2-точечное

Направление реакции

Увеличение оптической плотности

Длины волн

700/600 nm

Точки расчета первая/последняя

10/10-47

Единицы измерения

ммоль/л (мг/дл, г/л)

Последовательность дозирования			
Объём реагентов			
R1	150 мкл		
R2	50 мкл		
Образцы			
Объём образцов		Образец	Дилуэнт (H ₂ O)
норма	2 мкл		
Уменьшение	10 мкл	15 мкл	135 мкл
увеличение	4 мкл		
Калибровка			
Калибратор	S1 H ₂ O; S2 Calibrator f.a.s. Lipids		
Способ расчета	Линейная регрессия		
Интервал калибровки	2-точечная: после смены лота, по данным контроля качества		
Этот метод стандартизирован по рекомендации Cholesterol Method Certification Protocol для производителей.			
Пересчет			
Анализаторы Roche/Hitachi cobas c systems автоматически вычисляют концентрацию каждого образца.			
Фактор пересчета: ммоль/л x 38,66 = мг/дл			
ммоль/л x 0,3866 = г/л			
мг/дл x 0,0259 = ммоль/л			
Ограничения, интерференции			
Критерий интерференции восстановление $\pm 10\%$ от начальной величины при 4 ммоль/л.			
Сыворотка, плазма			
Гемолиз	Не оказывает значимого влияния до индекса H 1000 (приблизительная концентрация гемоглобина 621 ммоль/л (1000 мг/дл)).		
Иктеричность	Не оказывает значимого влияния до индекса I 60 для конъюгированного и неконъюгированного билирубина (приблизительная концентрация билирубина 1026 ммоль/л (60 мг/дл)).		
Липемия	Не оказывает значимого влияния до L индекса 200. Существует слабая корреляция между L индексом (характеризует мутность) и концентрацией триглицеридов. Не оказывает значимого влияния до ЛПВП ≤ 75 мг/дл, ЛПОНП ≤ 140 мг/дл или хиломикронами.		
Медикаменты	Никакой интерференции не было обнаружено при использовании стандартной панели. Исключение: внутривенное введение жировых смесей может привести к искусственному завышению холестерина ЛПНП при терапевтическом уровне лекарств.		
Аскорбиновая кислота	Не оказывает значимого влияния до 50 мг/дл (2,84 ммоль/л)		
Другое	Нарушение функции печени влияет на липидный метаболизм; следовательно, у этих пациентов результаты ЛПВП и ЛПНП обладают ограниченной диагностической ценностью. У некоторых пациентов с патологией печени результат определения показателей холестерина значительно снижен.		
Для диагностических целей, результаты должны всегда оцениваться в комплексе с историей болезни, клиническим обследованием и другими данными пациента.			
Диапазон измерения			
	0,10-14,2 ммоль/л (3,85-548 мг/дл)		
Расширенный диапазон (расчетный)	0,10-28,4 ммоль/л (3,85-1097 мг/дл)		
Нижний предел обнаружения	0,10 ммоль/л (3,85 мг/дл)		
Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше нулевого образца (нулевой образец + 3 SD, в пределах точности, n = 21).			
Ожидаемые значения			
Значения с точки зрения риска кардиологических заболеваний			
Оптимальные	<2,59 ммоль/л; <100 мг/дл		
Близко к оптимальным	2,59-3,34 ммоль/л; 100 – 129 мг/дл		
Пограничные	3,37- 4,12 ммоль/л; 130 – 159 мг/дл		
Высокие	4,14 – 4,89 ммоль/л; 160 – 189 мг/дл		
Очень высокие	$\geq 4,92$ ммоль/л; ≥ 190 мг/дл		
Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения.			

Точность

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии $n = 21$; всего $n = 63$). Были получены следующие результаты:

Внутри серии	Среднее ммоль/л (мг/дл)	Коэффициент вариации%
Precinorm L	2,78 (107)	0,7
Precipath HDL/LDL-C	5,50 (212)	0,8
Сыворотка человека1	2,51 (96,9)	0,9
Сыворотка человека2	6,14 (237)	1,3
Всего		
Precinorm L	2,65 (102)	2,7
Precipath HDL/LDL-C	5,42 (209)	2,3
Сыворотка человека3	1,47 (56,8)	1,9
Сыворотка человека4	3,95 (153)	2,1

Ссылки

1. Rifai N, Warnick GR, McNamara JR, Belcher JD, Grinstead GF, Frantz Jr ID. Measurement of Low-Density-Lipoprotein Cholesterol in Serum: a Status Report. Clin Chem 1992;38:150-160.
2. Bachoric P. Measurement of Low-Density-Lipoprotein. 245-263. In: Handbook of Lipoprotein Testing (eds. Rifai, Warnick and Dominiczak), 2nd edition, AACC press, 2000.
3. National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). NIH Publication No. 93-3095, 1995.
4. Naito HK, Strong JP, Scott MG, Roheim PS, Asztalos BF, Zilversmit DB, Srinivasan SR, Berenson GS, Wilson PWF, Scanu AM, Malikow MR. Atherogenesis: current topics on etiology and risk factors. Clin Chem 1995;41:132-133 No. 1.
5. Wieland H, Seidel D. Quantitative Lipoprotein Electrophoresis. In: Handbook of Electrophoresis, Vol III, ed. Lewis A., Boca Raton: CRC Press, 83-102, 1983.
6. Armstrong V, Seidel D. Evaluation of a Commercial Kit for the Determination of LDL-Cholesterol in Serum Based on Precipitation of LDL with Dextran Sulfate. Arztl. Lab. 1985;31:325-330.
7. Friedewald WF, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of LDL-Cholesterol Concentration without Use of the Preparative Ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18:499-502.
8. Bachoric PS, Ross JW. National cholesterol education program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. Clin Chem 1995;41:1414-1420.
9. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
10. Pisani T, Gebiski CP, Leary ET, et al. Accurate Direct Determination of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
11. Data on file at Roche Diagnostics.
12. LDL Cholesterol Method Certification Protocol for Manufacturers. National Reference System for Cholesterol. Cholesterol Reference Method Laboratory Network. October 1997.
13. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
14. Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods", Breuer J, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
15. Third Report of the National Cholesterol Education Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 01-3670, May 2001.
16. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

COBAS, COBAS C, PRECINORM and PRECIPATH are trademarks of Roche.
Other brand or product names are trademarks of their respective holders.
Significant additions or changes are indicated by a change bar in the margin.
©2001 Roche Diagnostics.



Roche Diagnostics GmbH, D-68299 Mannheim
for USA: US Distributor:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
US Customer Technical Support 1-800-428-5800



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики

ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

ЛПНП, R1 (LDL-Cholesterol, no pretreatment (LDL-C plus 2nd generation)
Roche/Hitachi)

ЛПНП, R2 (LDL-Cholesterol, no pretreatment (LDL-C plus 2nd generation)
Roche/Hitachi)

ЛПНП (sdLDL Pretreatment kit)

ХОЛЕСТЕРИН ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ

Информация о реагентах

LDL-Cholesterol plus 2nd generation	R1	Cat. No. 05230438190
	R2	Cat. No. 05230446190
Калибратор C.f.a.s. Lipids	3 x 1 мл	Cat. No. 12172623 122
Контроль Precinorm® L	4 x 3 мл	Cat. No. 10781827 122
Контроль Precipath® HDL/LDL-C	4 x 3 мл	Cat. No. 11778552 122
NaCl Diluent 9%	6 x 22 мл	Cat. No. 04489357 190
		System-ID 07 6869 3

Может использоваться для анализаторов:

Назначение теста

LDL-cholesterol 2nd generation содержит систему реагентов для количественного определения in vitro концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП, LDL-Cholesterol) в сыворотке и плазме, предназначенную для использования в системах с Roche/Hitachi.

Клиническое значение

Липопротеиды низкой плотности (LDL) играют ключевую роль в возникновении и распространении атеросклероза, и, конкретно, при коронарном атеросклерозе. ЛПНП образуются от VLDL (липопротеидов очень низкой плотности с богатым содержанием триглицеридов) под действием различных липолизических ферментов и синтезируются печенью.

Элиминация ЛПНП из плазмы происходит главным образом паренхимальными клетками печени и через специфические рецепторы ЛПНП. Повышенная концентрация ЛПНП в крови и увеличение времени их существования связывается с увеличением их биологической модификации при деструкции эндотелиальной функции и более высоким захватом холестерина ЛПНП моноцит/макрофагальной системой, также как и гладкомышечными клетками сосудистой стенки. Основной холестерин, откладываемый в атеросклеротических бляшках, происходит из ЛПНП. Концентрация холестерина ЛПНП является наиболее сильным клиническим предиктором среди всех одиночных параметров, используемых при оценке коронарного атеросклероза. Следовательно, терапия, направленная на снижение концентрации липидов, первоначально нацелена на снижение холестерина ЛПНП. Эффективная терапия выражается в улучшении функции эндотелия, профилактике атеросклероза и уменьшении его прогрессирования, а также профилактике разрыва бляшки.

Для определения холестерина ЛПНП доступны различные методы, такие как ультрацентрифугирование - референтный метод, электрофоретическое разделение липопротеидов и методы преципитации. При использовании преципитации осаждают аполипопротеиды В, содержащие холестерин ЛПНП, например, с использованием поливинил сульфата, декстран сульфата или полициклических анионов. Концентрация ЛПНП обычно вычисляется как разность между общим холестерином и холестерином ЛПОНП и холестерином ЛПВП в супернатанте после осаждения с поливинил сульфатом и декстран сульфатом.

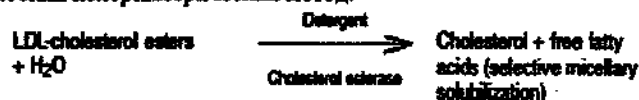
Научно-исследовательские клиники по изучению липидов рекомендуют комбинацию ультрацентрифугирования и методов преципитации, использующих полианионы в присутствии двухвалентных катионов. Тем не менее, методы осаждения, трудоемкие, не подлежат автоматизации и подвержены влиянию гиперлипидемической сыворотки, особенно при высокой концентрации свободных жирных кислот. Более современный метод основан на определении холестерина ЛПНП после иммуноадсорбции и центрифугирования.

Этот автоматизированный метод для прямого определения холестерина ЛПНП имеет преимущество селективным мицеллярным растворением холестерина ЛПНП с помощью неионного детергента и взаимодействием сахарозного компонента и липопротеидов (ЛПОНП и хиломикронов). Когда детергент включается в ферментативный метод для определения холестерина (холестерин эстеразная, холестерин оксидазная фазы реакции), относительная реактивность холестерина увеличивается по липопротеидам в следующем порядке: ЛПВП < хиломикроны < ЛПОНП < ЛПНП. В присутствии Mg++ сахарозный компонент значительно снижает ферментативную реакцию определения холестерина в ЛПОНП и хиломикронах. Комбинация сахарозного состава с детергентом обуславливает выборочное определение холестерина ЛПНП в сыворотке. Результаты в пробах, полученных не натощак немного ниже, чем результаты после голодания. Этот прямой метод отвечает целям NCEP 1995 <4% общего CV, смещение ≤4% против референтного метода и ≤12% общей аналитической ошибки.

Вычисление концентрации холестерина ЛПНП обычно производят согласно формуле Фридевальд. Формула основана на 2-х определениях холестерина, 1-ом определении триглицеридов, а также этапа осаждения при определении ЛПВП и базируется на том, что существует прямая зависимость между холестерином ЛПОНП и триглицеридами в образцах крови, полученных после ночного голодания. Даже в присутствии небольших количеств хиломикронов или патологических липопротеидов, формула приводит к получению ложно заниженных концентраций ЛПНП. По этой причине существует необходимость простого и надежного метода для определения холестерина ЛПНП без любых подготовительных шагов или вычислений.

Принцип теста

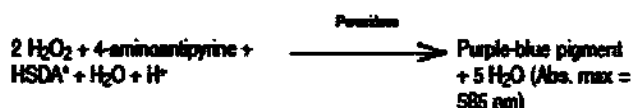
Гомогенный энзиматический колориметрический метод.



Эфиры холестерина ЛПНП расщепляются количественно холестеринэстеразой до холестерина и свободных жирных кислот.



В присутствии кислорода, холестерин окисляется холестериноксидазой до Δ^4 -холестерона и перекиси водорода.



* HSDA = Sodium N-(2-hydroxy-3-sulfinylpropyl)-3,5-diaminoguanidine

В присутствии пероксидазы, перекись водорода генерирует реакцию с 4-аминоантипирином и HSDA с формированием комплекса фиолетово-синего цвета. Интенсивность формирования окрашенного комплекса прямо пропорциональна концентрации холестерина и изменяется фотометрически.

Реагенты (рабочие растворы)

R1 MOPS буфер: 20,1 ммоль/л, pH 6,5; HSDA: 0,96 ммоль/л; аскорбат оксидаза:

≥50 мккат/л; пероксидаза: ≥167 мккат/л; консерванты

R2 MOPS буфер: 20,1 ммоль/л, pH 6,8; MgSO₄·7H₂O: 8,11 ммоль/л; 4-аминоантипирин: 2,46 ммоль/л;

холестеринэстераза: ≥50 мккат/л; холестериноксидаза: ≥33,3 мккат/л; пероксидаза: ≥334 мккат/л; детергент; консерванты.

Готовы к использованию.

Хранение и стабильность

LDL_C

Хранение при 2-8°C «на полке»

На борту холодильника анализатора

NaCl 9 %

Хранение при 2-8°C «на полке»

На борту холодильника анализатора

До указанного на кассете срока годности

12 недель

До указанного на кассете срока годности

12 недель

Сбор и подготовка материала для исследования

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Сыворотка.

Плазма: Li-гепарин. Использование ЭДТА приводит к более низким результатам.

Могут быть использованы образцы, взятые у пациентов как после ночного голодания, так и без него.

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя пробирок.

Стабильность:

сыворотка/плазма

7 дней при 2-8°C

30 дней при -70°C

Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Адаптация для плазмы и сыворотки COBAS C 501 system

Способ вычисления

2-точечное

Направление реакции

Увеличение оптической плотности

Длины волн

700/600 нм

Точки расчета первая/последняя

10/10-47

Единицы измерения

ммоль/л (мг/дл, г/л)

cobas c systems

2/3

2046-08, V1 English

Последовательность дозирования			
Объём реагентов			
R1	150 мкл		
R2	50 мкл		
Образцы			
Объём образцов		Образец	Дилуэнт (H2O)
норма	2 мкл		
Уменьшение	10 мкл	15 мкл	135 мкл
увеличение	4 мкл		
Калибровка			
Калибратор	S1 H2O; S2 Calibrator f.a.s. Lipids		
Способ расчета	Линейная регрессия		
Интервал калибровки	2-точечная: после смены лота, по данным контроля качества		
Этот метод стандартизирован по рекомендации Cholesterol Method Certification Protocol для производителей.			
Пересчёт			
Анализаторы Roche/Hitachi cobas c systems автоматически вычисляют концентрацию каждого образца.			
Фактор пересчёта: ммоль/л x 38,66 = мг/дл			
ммоль/л x 0,3866 = г/л			
мг/дл x 0,0259 = ммоль/л			
Ограничения, интерференция			
Критерий интерференции восстановление ±10% от начальной величины при 4 ммоль/л.			
Сыворотка, плазма			
Гемолиз	Не оказывает значимого влияния до индекса H 1000 (приблизительная концентрация гемоглобина 621 мкмоль/л (1000 мг/дл)).		
Иктеричность	Не оказывает значимого влияния до индекса I 60 для конъюгированного и неконъюгированного билирубина (приблизительная концентрация билирубина 1026 мкмоль/л (60 мг/дл)).		
Липемия	Не оказывает значимого влияния до L индекса 200. Существует слабая корреляция между L индексом (характеризует мутность) и концентрацией триглицеридов. Не оказывает значимого влияния до ЛПВП ≤75 мг/дл, ЛПОНП ≤140 мг/дл или хиломикронами.		
Медикаменты	Никакой интерференции не было обнаружено при использовании стандартной панели. Исключение: внутривенное введение жировых смесей может привести к искусственному завышению холестерина ЛПНП при терапевтическом уровне лекарств.		
Аскорбиновая кислота	Не оказывает значимого влияния до 50 мг/дл (2,84 ммоль/л)		
Другое	Нарушение функции печени влияет на липидный метаболизм; следовательно, у этих пациентов результаты ЛПВП и ЛПНП обладают ограниченной диагностической ценностью. У некоторых пациентов с патологией печени результат определения показателей холестерина значительно снижен.		
Для диагностических целей, результаты должны всегда оцениваться в комплексе с историей болезни, клиническим обследованием и другими данными пациента.			
Диапазон измерения			
	0,10-14,2 ммоль/л (3,85-548 мг/дл)		
Расширенный диапазон (расчетный)	0,10-28,4 ммоль/л (3,85-1097 мг/дл)		
Нижний предел обнаружения	0,10 ммоль/л (3,85 мг/дл)		
Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше нулевого образца (нулевой образец + 3 SD, в пределах точности, n = 21).			
Ожидаемые значения			
Значения с точки зрения риска кардиологических заболеваний			
Оптимальные	<2,59 ммоль/л; <100мг/дл		
Близко к оптимальным	2,59-3,34 ммоль/л; 100 – 129 мг/дл		
Пограничные	3,37-4,12 ммоль/л; 130 – 159 мг/дл		
Высокие	4,14 –4,89 ммоль/л; 160 – 189 мг/дл		
Очень высокие	≥4,92ммоль/л; ≥190 мг/дл		
Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения.			

Точность

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии $n = 21$; всего $n = 63$). Были получены следующие результаты:

Внутри серии	Среднее ммоль/л (мг/дл)	Коэффициент вариации%
Precinorm L	2,78 (107)	0,7
Precipath HDL/LDL-C	5,50 (212)	0,8
Сыворотка человека1	2,51 (96,9)	0,9
Сыворотка человека2	6,14 (237)	1,3
Всего		
Precinorm L	2,65 (102)	2,7
Precipath HDL/LDL-C	5,42 (209)	2,3
Сыворотка человека3	1,47 (56,8)	1,9
Сыворотка человека4	3,95 (153)	2,1

Ссылки

1. Rifai N, Warnick GR, McNamara JR, Belcher JD, Grinstead GF, Frantz Jr ID. Measurement of Low-Density-Lipoprotein Cholesterol in Serum: a Status Report. Clin Chem 1992;38:150-160.
2. Bachoric P. Measurement of Low-Density-Lipoprotein. 245-263. In: Handbook of Lipoprotein Testing (eds. Rifai, Warnick and Dominiczak), 2nd edition, AACC press, 2000.
3. National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). NIH Publication No. 93-3095, 1995.
4. Naito HK, Strong JP, Scott MG, Roheim PS, Asztalos BF, Zilversmit DB, Srinivasan SR, Berenson GS, Wilson PWF, Scanu AM, Malikow MR. Atherogenesis: current topics on etiology and risk factors. Clin Chem 1995;41:132-133 No. 1.
5. Wieland H, Seidel D. Quantitative Lipoprotein Electrophoresis. In: Handbook of Electrophoresis, Vol III, ed. Lewis A., Boca Raton: CRC Press, 83-102, 1983.
6. Armstrong V, Seidel D. Evaluation of a Commercial Kit for the Determination of LDL-Cholesterol in Serum Based on Precipitation of LDL with Dextran Sulfate. Ärztl. Lab. 1985;31:325-330.
7. Friedewald WF, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of LDL-Cholesterol Concentration without Use of the Preparative Ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18:499-502.
8. Bachoric PS, Ross JW. National cholesterol education program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. Clin Chem 1995;41:1414-1420.
9. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
10. Pisani T, Gebiski CP, Leary ET, et al. Accurate Direct Determination of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
11. Data on file at Roche Diagnostics.
12. LDL Cholesterol Method Certification Protocol for Manufacturers. National Reference System for Cholesterol. Cholesterol Reference Method Laboratory Network. October 1997.
13. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
14. Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods", Breuer J, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
15. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 01-3670, May 2001.
16. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

trademarks of their respective holders

COBAS, COBAS C, PRECINORM and PRECIPATH are trademarks of Roche.
Other brand or product names are trademarks of their respective holders.
Significant additions or changes are indicated by a change bar in the margin.
©2001 Roche Diagnostics.

CE

Roche Diagnostics GmbH, D-68299 Mannheim
for USA: US Distributor:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
US Customer Technical Support 1-800-428-2288



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Липопротейды низкой плотности (LDL Cholesterol plus 2nd generation cobas c system)

Холестерин липопротеидов низкой плотности плюс вер.2 (LDL_C)

cobas c systems

cobas c 111

Кобас с системы

Информация о реагентах

LDL-холестерин плюс вер.2	2x50 тестов	Номер по каталогу 05401682190
Cobas c 111		
Калибратор липидов CFAS Lipids	3 x 1мл	Номер по каталогу 12172623122 Код 424
Контроль норма Precinorm L	4x3 мл	Номер по каталогу 10781827 122 Код 304
Контроль патология Precipath HDL/LDL-C	4x3 мл	Номер по каталогу 11778552 122 Код 319
Клинер		Номер по каталогу 04774248 190 Код 947

NaCl 9%

Предписание для использования

Набор реагентов для количественного определения *in vitro* концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности в сыворотке и плазме на установках cobas c 111.

Теоретическое обоснование

Липопротеиды низкой плотности (LDL) играют ключевую роль в возникновении и распространении атеросклероза, и, конкретно, при коронарном атеросклерозе. ЛПНП образуются от VLDL (липопротеидов очень низкой плотности с богатым содержанием триглицеридов) под действием различных липолитических ферментов и синтезируются печенью.

Элиминация ЛПНП из плазмы происходит главным образом паренхимальными клетками печени и через специфические рецепторы ЛПНП. Повышенная концентрация ЛПНП в крови и увеличение времени их существования связывается с увеличением их биологической модификации при деструкции эндотелиальной функции и более высоким захватом холестерина ЛПНП моноцит/макрофагальной системой, также как и гладкомышечными клетками сосудистой стенки. Основной холестерин, откладываемый в атеросклеротических бляшках, происходит из ЛПНП. Концентрация холестерина ЛПНП является наиболее сильным клиническим предиктором среди всех одиночных параметров, используемых при оценке коронарного атеросклероза. Следовательно, терапия, направленная на снижение концентрации липидов, первоначально нацелена на снижение холестерина ЛПНП. Эффективная терапия выражается в улучшении функции эндотелия, профилактике атеросклероза и уменьшении его прогрессирования, а также профилактике разрыва бляшки.

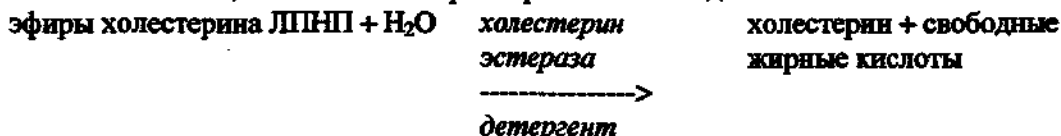
Для определения холестерина ЛПНП доступны различные методы, такие как ультрацентрифугирование - референтный метод, электрофоретическое разделение липопротеидов и методы преципитации. При использовании преципитации осаждают аполипопротеиды В, содержащие холестерин ЛПНП, например, с использованием поливинил сульфата, декстран сульфата или полициклических анионов. Концентрация ЛПНП обычно вычисляется как разность между общим холестерином и холестерином ЛПОНП и холестерином ЛПВП в супернатанте после осаждения с поливинил сульфатом и декстран сульфатом.

Научно-исследовательские клиники по изучению липидов рекомендуют комбинацию ультрацентрифугирования и методов преципитации, использующих полианионы в присутствии двухвалентных катионов.

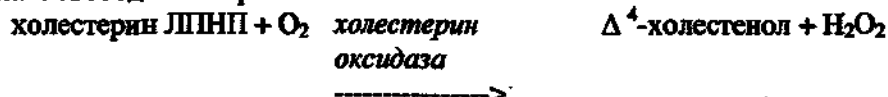
Тем не менее, методы осаждения, трудоемкие, не подлежат автоматизации и подвержены влиянию гиперлипидемической сыворотки, особенно при высокой концентрации свободных жирных кислот. Более современный метод основан на определении холестерина ЛПНП после иммуноадсорбции и центрифугирования. Вычисление концентрации холестерина ЛПНП обычно производят согласно формуле Фридевальд. Формула основана на 2-х определениях холестерина, 1-ом определении триглицеридов, а также этапа осаждения при определении ЛПВП и базируется на том, что существует прямая зависимость между холестерином ЛПОНП и триглицеридами в образцах крови, полученных после ночного голодания. Даже в присутствии небольших количеств хиломикронных или патологических липопротеидов, формула приводит к получению ложно заниженных концентраций ЛПНП. По этой причине существует необходимость простого и надежного метода для определения холестерина ЛПНП без любых подготовительных шагов или вычислений. Этот автоматизированный метод для прямого определения холестерина ЛПНП имеет преимущество селективным мицелярным растворением холестерина ЛПНП с помощью неионного детергента и взаимодействием сахарозного компонента и липопротеидов (ЛПОНП и хиломикронных). Когда детергент включается в ферментативный метод для определения холестерина (холестерин эстеразная, холестерин оксидазная фазы реакции), относительная реактивность холестерина увеличивается по липопротеидам в следующем порядке: ЛПВП < хиломикроны < ЛПОНП < ЛПНП. В присутствии Mg^{++} сахарозный компонент значительно снижает ферментативную реакцию определения холестерина в ЛПОНП и хиломикронах. Комбинация сахарозного состава с детергентом обуславливает выборочное определение холестерина ЛПНП в сыворотке. Результаты в пробах, полученных не натощак немного ниже, чем результаты после голодания.

Принцип метода

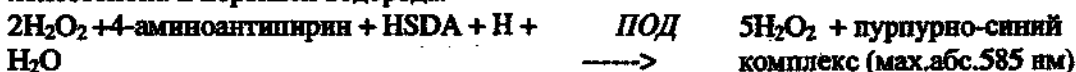
Гомогенный энзиматический колориметрический метод.



Эфиры холестерина ЛПНП расщепляются количественно холестеринэстеразой до холестерина и свободных жирных кислот.



В присутствии кислорода, холестерин окисляется холестериноксидазой до Δ^4 -холестенона и перекиси водорода.



*HSDA = Sodium N-(2-hydroxy-3-sulphopropyl)-3,5-dimethoxyaniline

В присутствии пероксидазы (ПОД) образовавшаяся перекись водорода реагирует с 4-амино-антипирином и HSDA с формированием пурпурно-синей окраски.

Интенсивность формирования окрашенного комплекса прямо пропорциональна концентрации холестерина и определяется фотометрически.

Реагенты

Готовы к использованию.

R1 MOPS буфер 20,1 ммоль/л, pH 6,5; HSDA 0,96 ммоль/л; аскорбат оксидаза ≥ 50 мккат/л; пероксидаза ≥ 167 мккат/л; консерванты

SR

MOPS буфер: 20,1 ммоль/л, pH 6,8; MgSO₄·7H₂O: 8,11 ммоль/л;
4-аминоантипирин: 2,46 ммоль/л; холестеринэстераза: ≥50
мккат/л; холестериноксидаза: ≥33,3 мккат/л; пероксидаза: ≥334
мккат/л; детергент; консерванты.

Меры предосторожности и предупреждения

Только для *in vitro* диагностики

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами. Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение и стабильность реагентов

Хранение при 2-8°C

Смотрите срок годности на упаковке

В приборе при использовании холодильника 3 недели
анализатора

Сбор и подготовка образцов

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Сыворотка.

Плазма.

Li-гепариновая плазма. Использование ЭДТА в качестве антикоагулянта может привести к занижению результата.

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя. Могут анализироваться образцы, полученные как натощак, так и после приёма пищи. Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Стабильность

Сыворотка/плазма 7 дней при 2-8°C
3 месяца при -70°C

Не используйте образцы, которые хранились при -20°C. Замораживание рекомендуется только при -70°C.

Протокол измерения

Для оптимального проведения исследования следуйте указаниям данного документа.

Ознакомьтесь с инструкцией оператора для анализатора, указанного в инструкции.

Использование протокола измерения, не подтвержденного Roche, не гарантирует корректного результата и должно определяться потребителем.

Протокол измерения для сыворотки и плазмы cobas c 111 system

Режим измерения

Адсорбция

Режим расчёта

Конечная точка

Направление реакции

Возрастание

Длины волн A/B

583/659 нм

Точки измерения: первая/последняя

16/37

Единицы измерения

ммоль/л

Последовательность дозирования

R1-S-SR

Параметры дозирования

R1

150 мкл

Образец

2 мкл

7 мкл

SR

50 мкл

Общий объём

209 мкл

Калибровка

Калибратор

CFAS Lipids

В качестве нулевого калибратора используйте деионизированную воду

Режим калибровки

Линейная регрессия

Дилуэнт (H₂O)

Интервал калибровки Каждый лот, по данным контроля качества
Стандартизация: метод стандартизирован по методу бета квантификации по рекомендации Cholesterol Method Certification Protocol LDL для производителей.

Контроль качества

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Контрольные материалы предназначены для использования только для оценки точности и правильности. Лабораторная панель стандартизации (LSP) Национальной Образовательной Холестериновой Программы (National Cholesterol Education Program - NCEP) рекомендует использовать контрольные материалы двух уровней, один - нормальном диапазоне (0,9-1,7 ммоль/л или 35-65 мг/дл) и один в концентрации, близкой к «зоне принятия решения» (<0,9 ммоль/л или <35 мг/дл).

Пересчет

Анализатор cobas c 111 автоматически вычисляет концентрацию анализата в каждом образце.

Факторы пересчета:

$$\text{ммоль/л} \times 38,66 = \text{мг/дл}$$

$$\text{ммоль/л} \times 0,3866 = \text{г/л}$$

$$\text{мг/дл} \times 0,0259 = \text{ммоль/л}$$

Факторы, влияющие на результаты

Критерий: Восстановление в пределах $\pm 10\%$ от начального значения ХС ЛПНП в концентрации 4,0 ммоль/л (154 мг/дл).

Иктеричность Не оказывает значимого влияния до значения 40 индекса I для конъюгированного и 60 для неконъюгированного билирубина (приблизительное значение конъюгированного билирубина 684 мкмоль/л (40 мг/дл) и неконъюгированного билирубина 1026 мкмоль/л (60 мг/дл).

Гемолиз Не оказывает значимого влияния до значения индекса H 980 (приблизительная концентрация гемоглобина 608 мкмоль/л (980 мг/дл).

Липемия Не оказывает значимого влияния до значения 300 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.

Лекарственные препараты Никакого влияния лекарственных препаратов не было обнаружено при использовании общей лекарственной панели.

Другое В редких случаях гаммапатий, конкретно при IgM типе (Вальденстрёма, макроглобулинемия) результаты могут искажаться.

Для диагностических целей, результаты должны всегда оцениваться в комплексе с историей болезни, клиническим обследованием и другими данными пациента.

Дополнительная промывка

Дополнительный цикл промывки (EWC), рекомендуется после R1 для предотвращения эффекта переноса в HDLC3.

Utilities / Configuration / Extra Wash Setting:

Active

On

Action

After

Trigger Bottle Code

059

Pipetting Type

Reagent 1

Cleaner-Bottle Code

947

Volume	100,0
Измеряемый интервал	0,10-14,2 ммоль/л (3,86-548 мг/дл)
Расширенный диапазон измерения (расчетный)	
Фактор разведения	4 (рекомендуемый)
	0,10-56,8 ммоль/л (3,86-2195 мг/дл)
Нижний предел обнаружения	0,10 ммоль/л (3,86 мг/дл)
Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше нулевого образца.	
Ожидаемые значения у взрослых	
Оптимальные	<2,59 ммоль/л (<100 мг/дл)
Близко к оптимальным/выше указанных оптимальных	2,59-3,34 ммоль/л (100-129 мг/дл)
Погранично высокие	3,37-4,12 ммоль/л (130-159 мг/дл)
Высокие	4,14 -4,89 ммоль/л (160-189 мг/дл)
Очень высокие	≥4,92 ммоль/л (≥190 мг/дл)

Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения. Данные, полученные в разных лабораториях могут различаться.

Точность

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии $n = 21$; всего $n = 30$). Были получены следующие результаты:

Внутри серии	Среднее ммоль/л (мг/дл)	SD ммоль/л (мг/дл)	CV %
Precipnorm L	2,76 (106)	0,0331 (1,2796)	1,20
Precipath HDL/LDL-C	4,98(192)	0,0687 (2,6559)	1,83
Сыворотка 1	1,97 (76,2)	0,0388 (1,5000)	1,97
Сыворотка 2	7,90 (305)	0,0658 (2,5438)	0,83
Всего	Среднее ммоль/л (мг/дл)	SD ммоль/л (мг/дл)	CV %
Precipnorm L	2,63 (101)	0,0340 (1,3144)	1,29
Precipath HDL/LDL-C	4,65 (179)	0,0806 (3,1160)	1,73
Сыворотка 3	1,81 (70,0)	0,0547 (2,1147)	3,02
Сыворотка 4	7,65 (295)	0,1227 (4,7436)	1,60

Сравнение методов

Значения ХС ЛПНП в сыворотке и плазме людей, полученные на анализаторе cobas c 111(y), сравнивались с подобной методикой, используемой на анализаторе COBAS INTEGRA 400 (x).

Сыворотка/плазма (n=118)

Passing/Bablok

$$y = 0,977x - 0,066 \text{ ммоль/л}$$

$$r = 0,976$$

Линейная регрессия

$$y = 0,979x - 0,086 \text{ ммоль/л}$$

$$r = 0,999$$

Концентрация проб: 0,16 – 14,2 ммоль/л (6,19 - 548 мг/дл).

СЫЛКЕ

1. Rifai N, Warnick GR, McNamara JR, Belcher JD, Grinstead GF, Frantz Jr ID. Measurement of Low-Density-Lipoprotein Cholesterol in Serum: a Status Report. Clin Chem 1992;38:150-160.
 2. Bachoric P. Measurement of Low-Density-Lipoprotein. 245-263. In: Handbook of Lipoprotein Testing (eds. Rifai, Warnick and Dominiczak), 2nd edition, AACC press, 2000.
 3. National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). NIH Publication No. 93-3095, 1995.
 4. Naito HK, Strong JP, Scott MG, Roheim PS, Asztalos BF, Zilversmit DB, Srinivasan SR, Berenson GS, Wilson PWF, Scanu AM, Malikow MR. Atherogenesis: current topics on etiology and risk factors. Clin Chem 1995;41:132-133 No. 1.
 5. Wieland H, Seidel D. Quantitative Lipoprotein Electrophoresis. In: Handbook of Electrophoresis, Vol III, ed. Lewis A., Boca Raton: CRC Press, 83-102, 1983.
 6. Armstrong V, Seidel D. Evaluation of a Commercial Kit for the Determination of LDL-Cholesterol in Serum Based on Precipitation of LDL with Dextran Sulfate. Ärztl. Lab. 1985;31:325-330.
 7. Friedewald WF, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of LDL-Cholesterol Concentration without Use of the Preparative Ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18:499-502.
 8. Bachorik PS, Ross JW. National cholesterol education program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. Clin Chem 1995;41:1414-1420.
 9. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
 10. Pisani T, Gebiski CP, Leary ET, et al. Accurate Direct Determination of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
 11. Data on file at Roche Diagnostics.
 12. LDL Cholesterol Method Certification Protocol for Manufacturers. National Reference System for Cholesterol. Cholesterol Reference Method Laboratory Network. October 1997.
 13. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
 14. Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods", Breuer J, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
 15. Third Report of the National Cholesterol Education Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 01-3670, May 2001.
 16. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
- 2007 Roche Diagnostics

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Гликогемоглобин (Tina-Quant HbA1c Gen.2 cobas c system (A1C-2))

Гемоглобин A1c (A1C-2)

Модификация для работы с цельной кровью и гемолизатом

Кобас с системы

cobas c systems

cobas c 111

Информация о реагентах

Типа-quant гемоглобин A1c вер.2	2x100 тестов	Номер по каталогу 05401640190
Cobas c 111		
Калибратор C.f.a.s. HbA1c	3 x 2 мл	Номер по каталогу 04528417190 Код 674
Контроль норма HbA1c N	4 x 0,5 мл	Номер по каталогу 20764833322 Код 357
Контроль патологии HbA1c P	4 x 0,5 мл	Номер по каталогу 2076484132 Код 358
Гемолизирующий реагент вер.2	8 x 6,3 мл	Номер по каталогу 05007232190 Код 952
Гемолизирующий реагент HbA1c для Типа-quant	1000 мл	Номер по каталогу 11488457122

Системная информация

Цельная кровь DCCT	ACN 890	A1W2D
Гемолизат DCCT	ACN 860	A1H2D
Цельная кровь IFCC	ACN 290	A1W2I
Гемолизат IFCC	ACN 260	A1H2I

Предписание для использования

Набор реагентов для количественного определения in vitro процента гемоглобина A1c [HbA1c (%)] в цельной крови на установках cobas c 111.

Теоретическое обоснование

Гемоглобин (Hb) является краснокрашенным белком, локализованным в эритроцитах, и состоит из 4 белковых цепей, каждая из которых содержит гем. Его главной функцией является транспорт кислорода и углекислого газа в крови. Каждая молекула гемоглобина способна связывать четыре молекулы кислорода. Гемоглобин состоит из ряда подфракций и производных. Среди этой гетерогенной группы, HbA1c является одним из белков фракции гликированных гемоглобинов, который образуется при присоединении различных сахаров к молекуле гемоглобина. HbA1 формируется посредством спонтанной неэнзиматической двухступенчатой реакции между N-концевой аминокислотой β -цепи нормального гемоглобина A взрослых (HbA) и D-глюкозой. В течение первой, обратимой стадии реакции, образуется базовое количество лабильного HbA1c, который преобразуется в стабильный в ходе второй более медленной стадии реакции. В эритроцитах, относительное количество HbA, преобразованного в стабильный HbA1c, увеличивается с возрастанием средней концентрации D-глюкозы, воздействующей на эритроциты в течение всей их жизни.

Т.к. средняя продолжительность жизни эритроцита 100-120 дней, следовательно, HbA1c отражает средний уровень глюкозы крови в течение 2-3 месяцев, предшествующих исследованию. Таким образом, HbA1c удобен для наблюдения и контроля уровня глюкозы в крови за длительный период времени у больных сахарным диабетом. Значения глюкозы, более близкие ко времени проведения исследования, имеют большее влияние на уровень HbA1c.

Приблизительное соотношение между средним уровнем глюкозы за предшествующие 2-3 месяца и HbA1c было проанализировано в нескольких исследованиях. В последних исследованиях было получена следующая корреляция:

Стандартизация по IFCC⁸

- Средняя величина глюкозы в плазме (ммоль/л) = $1,73 \times \text{HbA1c} (\%) + 0,20$
- Средняя величина глюкозы в плазме (ммоль/л) = $31,2 \times \text{HbA1c} (\%) + 3,51$

Стандартизация по DCCT/NGSP⁸

- Средняя величина глюкозы в плазме (ммоль/л) = $1,98 \times \text{HbA1c} (\%) - 4,29$
- Средняя величина глюкозы в плазме (мг/дл) = $35,6 \times \text{HbA1c} (\%) - 77,3$

Риск осложнений диабета, таких как диабетическая нефропатия и ретинопатия увеличивается вследствие недостаточного контроля метаболизма. В качестве индикатора среднего уровня глюкозы крови, HbA1c помогает предвидеть развитие осложнений у пациентов с сахарным диабетом.

Тест HbA1c пригоден для рутинного клинического использования и предполагает повторение каждые 3-4 месяца. В некоторых клинических ситуациях, таких как диабет беременных или после значимого изменения терапии, может быть полезным измерение HbA1c с интервалом в 2-4 недели.

Принцип метода

Цельная кровь, взятая с антикоагулянтами, гемолизируется автоматически на анализаторе **cobas c 111** с использованием **cobas c** Гемолизирующего реагента вер.2. В этой методике в Гемолизирующем реагенте используется в качестве детергента ТТАВ (Тетрадецилметиламмоний бромид) для устранения влияния лейкоцитов (ТТАВ не лизирует лейкоциты). Предварительная обработка образца для удаления лабильного HbA1c не является необходимой.

Все варианты гемоглобина, гликозилированные в β -цепи N-конца и имеющие антигено-специфичные участки идентичные участкам самого HbA1c могут быть измерены этим тестом. Следовательно, этим тестом может быть оценён метаболический статус пациента с уремией или наиболее частыми гемоглобинопатиями (HbAS, HbAC, HbAE).

Гемоглобин A1c

Определение гемоглобина HbA1c основано на турбидиметрическом иммуноингибировании (TINIA) в цельной гемолизированной крови.

- Образец и добавление реагента R1 (буфер/антитела): Гликогемоглобин (HbA1c) в образце реагирует с анти-HbA1 антителами и формирует растворимый комплекс антиген-антитело. Пока специфические антитела HbA1c присутствуют только на молекуле HbA1, образование комплекса не происходит.
- Добавление R2 (буфер/полигантен) и запуск реакции: полигантены реагируют с избытком анти-HbA1 антител с формированием нерастворимого комплекса антитело-полигантен, который может быть измерен турбидиметрически.

Гемоглобин

При гемолизе образца высвобождаемый гемоглобин преобразуется в производную, имеющую характерный спектр поглощения, который измеряется бихроматически в ходе фазы прейнкубации (образец + R1) вышеуказанной иммунологической реакции. Следовательно, отдельный реагент для гемоглобина не является необходимым. Конечный результат выражается как процент HbA1c и вычисляется с использованием коэффициента HbA1c/Hb следующим образом:

Протокол №1 (по рек. IFCC): $\text{HbA1C} (\%) = (\text{HbA1C} / \text{Hb}) \times 100$

Протокол №2 (по рек. DCCT/NGSP): $\text{HbA1C} (\%) = (\text{HbA1C} / \text{Hb}) \times 87,6 + 2,27$

Реагенты

Готовы к использованию.

- R1** Реагент с антителами
MES (2-морфолиноэтан сернистая кислота) буфер 0,025 моль/л;
TRIS (Трис(гидрохсиметил)-аминометан) буфер 0,015 моль/л, pH 6,2; антитела HbA1c $\geq 0,5$ мг/мл; стабилизаторы; консерванты (жидкость).
- R2=SR** Реагент с полигаптенами
MES буфер 0,025 моль/л; TRIS буфер 0,015 моль/л, pH 6,2; HbA1c полигаптен ≥ 8 мкг/мл; стабилизаторы, консерванты (жидкость).

Меры предосторожности и предупреждения

Только для *in vitro* диагностики

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами. Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение и стабильность реагентов

HbA1c

Хранение при 2-8°C

Смотрите срок годности на упаковке

В приборе при использовании холодильника анализатора

4 недели

Гемолизирующий реагент вер.2

Смотрите срок годности на упаковке

Кат. номер 05007232 (концентрированный)

Хранение при 2-8°C

В приборе при использовании холодильника анализатора

5 дней

Хранение реагента при температуре ниже 3°C может привести к помутнению раствора. Это не влияет на работу реагента и является обратимым при более высоких температурах. Таким образом, рекомендуется выдержать реагент перед использованием при комнатной температуре около 10 минут и тщательно перемешать.

Сбор и подготовка образцов

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Может быть использована венозная или капиллярная кровь с антикоагулянтами: Li-гепарин, K2-ЭДТА и K3-ЭДТА.

Материалы, используемые для производства первичных пробирок, могут содержать вещества, которые могут влиять на результаты теста, поэтому, используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя пробирок. Допускается только однократное замораживание. Тщательно перемешайте образец после размораживания.

Стабильность 3 дня при 15-25°C
7 дней при 2-8°C
6 месяцев при (-15)-(-25)°C

Приготовление гемолизата вручную

1. Перед использованием доведите образец крови и гемолизирующий реагент для Tina-quant HbA1c (Кат. номер 11488457) до комнатной температуры.
2. Осторожно перемешайте образец непосредственно перед дозированием, чтобы гарантировать гомогенную смесь эритроцитов. Избегайте образования пены.
3. Разбавьте образец Гемолизирующим реагентом Tina-quant HbA1c в соотношении 1:101 (1+100) используя одну из следующих схем дозирования:

Гемолизирующий реагент	500 мкл	1000 мкл	2000 мкл
Tina-quant HbA1c			
Образец (пациент или контроль)	5 мкл	10 мкл	20 мкл

4. Мягко перемешайте вручную, смешивая или используйте аппарат для перемешивания крови.
5. Гемолизат можно использовать после того, как раствор поменяет цвет с красного на коричнево-зеленый (приблизительно за 1-2 мин).

Стабильность 4 часа при 15-25°C
 24 часа при 2-8°C
 6 месяцев при (-15)-(-25)°C

Протокол измерения

Для оптимального проведения исследования следуйте указаниям данного документа. Ознакомьтесь с инструкцией оператора для анализатора, указанного в инструкции. Использование протокола измерения, не подтвержденного Roche, не гарантирует корректного результата и должно определяться потребителем.

Протокол измерения для сыворотки и плазмы cobas c 111 system для Hb

Режим измерения	Адсорбция
Режим расчёта	Кинетика
Направление реакции	Возрастание
Длины волн A/B	378/659 нм
Точки измерения: первая/последняя	6/16
Единицы измерения	г/дл
Последовательность дозирования	R1-S

Параметры дозирования для Hb

		Дилуэнт (H ₂ O)
R1	120 мкл	
Образец	6 мкл	0 мкл
Общий объём	126 мкл	

Протокол измерения для сыворотки и плазмы cobas c 111 system для HbA1c

Режим измерения	Адсорбция
Режим расчёта	Кинетика
Направление реакции	Возрастание
Длины волн A/B	378/659 нм
Точки измерения: первая/последняя	6/16
Единицы измерения	г/дл
Последовательность дозирования	R1-S

Параметры дозирования для HbA1c

		Дилуэнт (H ₂ O)
R1	120 мкл	
Образец	6 мкл	0 мкл
SR	24 мкл	0 мкл
Общий объём	150 мкл	

Калибровка Hb

Калибратор CFAS HbA1c

Калибровка HbA1c

Калибратор CFAS HbA1c

Разведение калибратора 1:1, 1:1,67, 1:2, 1:5, 1:25, 1:100 выполняется анализатором автоматически

Дилуэнт для калибратора Гемолизирующий реагент (Hemolyzing Reagent Gen.2)

Интервал калибровки Каждый лот, каждые 14 дней, по данным контроля качества

Стандартизация: Метод стандартизован относительно рекомендованного референтного метода одобренного IFCC для определения HbA1c в крови человека. Результат так же может быть переведён в значения, основанные на рекомендациях DCCT/NGSP.

Контроль качества

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Примечание: Обрабатывать контроли необходимо так же как образцы! Значения HbA1c в контролях указаны только для HbA1c (%). Никаких результатов для Hb и концентрации HbA1c не предусмотрено. Как следствие, контрольные материалы для HbA1c исследуются как образцы, и их результаты не могут быть включены в Программу Контроля Качества cobas c 111.

Пересчет

Анализатор cobas c 111 автоматически вычисляет соотношение между A1c и Hb в каждом образце.

Факторы, влияющие на результаты

1. Для диагностических целей результаты HbA1c (%) должны оцениваться в комплексе с другими диагностическими процедурами и клиническими данными.
2. Тест разработан только для точного и воспроизводимого измерения HbA1c (%). Результаты общего Hb и концентрации HbA1c в индивидуальных образцах не должны использоваться.
3. Тест не предназначается для установления диагноза сахарного диабета или для ежедневной оценки глюкозы, и не должен использоваться в качестве замены ежедневному самоконтролю уровня глюкозы в крови или моче.
4. Исходя из принципа метода, необходимо внимательно подходить к интерпретации любого результата HbA1c у пациентов с различными вариантами Hb. Патологические гемоглобины могут определять период полужизни эритроцитов или уровень гликозилирования *in vivo*. В этих случаях даже аналитически правильные результаты не отражают уровень гликемии, который соответствует гликемии у пациентов с нормальным гемоглобином.
5. Любая причина, приводящая к сокращению срока жизни эритроцитов, снижает связывание эритроцитов и глюкозы с последующим уменьшением HbA1c (%), даже в тех случаях, когда средний уровень глюкозы в крови увеличен. Причинами уменьшения срока жизни эритроцитов могут быть гемолитическая анемия или другие гемолитическими болезнями, гомозиготы при серповидно-клеточной анемии, беременностью, недавняя значительная или хроническая кровопотеря и т.д. Данное предупреждение должно использоваться при интерпретации результатов HbA1c у пациентов с этими состояниями.
6. Гликозилированный HbF не обнаруживается этим тестом, так как не содержит гликозилированную β -цепь, которая характеризует HbA1c. Тем не менее, HbF измеряется в пуле общего Hb и как, следствие, в образцах, содержащих высокие концентрации HbF (>10%) значение HbA1c может оказаться ниже ожидаемого.

Критерий: Восстановление в пределах $\pm 10\%$ от начального значения.

Иктеричность Не оказывает значимого влияния.

Липемия Не оказывает значимого влияния до значения триглицеридов 800 мг/дл.

Гликемия Не оказывает значимого влияния до значения глюкозы 55,5 ммоль/л (1000 мг/дл). Не требуется голодания перед взятием образца.

Ревматоидный фактор Не оказывает значимого влияния до значения ревматоидного фактора 750 МЕ/мл.

Другое Никаких перекрестных реакций с HbA0, HbA1a, HbA1b, ацетилированным гемоглобином, гликозилированным альбумином и меченным HbA1c не обнаружено для анти-HbA1c антител, используемых в этом наборе.

Для диагностических целей, результаты должны всегда оцениваться в комплексе с историей болезни, клиническим обследованием и другими данными пациента.

Измеряемый интервал Hb: 4-35 г/дл
HbA1c: 0,3-2,5 г/дл*

* Измеряемый интервал для HbA1c лежит между 0,3 г/дл и концентрацией самого высокого стандарта. Измеряемые значения теста указанные выше основаны на типовой величине калибратора 2,5 г/дл. Это соответствует измеряемому интервалу 2-16,7% HbA1c (величины IFCC; соответствующие величины для DCCT/NGSP: 4-16,9% HbA1c) при типовой концентрации гемоглобина 15 г/дл.

Нижний предел обнаружения Hb 0,5 г/дл
HbA1c 0,1 г/дл

Типичный нижний предел обнаружения для измеряемой области теста для %HbA1c может вычисляться, базируясь получаемой концентрации Hb. Предположим, наиболее часто встречаемая концентрация область теста 13,2 г/дл, нижний предел обнаружения измеряемой области для %HbA1c – 0,8% (величины IFCC; соответствующие значения для DCCT/NGSP – 2,9%).

Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше нулевого образца.

Ожидаемые значения

Протокол 1 (IFCC) 2,9-4,2% HbA1c

Протокол 2 (DCCT/NGSP) 4,8-5,9% HbA1c

Результат HbA1c выше ожидаемых значений указывают на гипергликемию в течение предшествующих 2 - 3 месяцев или более длительного срока. Значение HbA1c может достигать 20% и выше при плохо контролируемом диабете. Терапевтическое воздействие предлагается начинать при уровне HbA1c выше 8%. Пациенты с диабетом, поддерживающие уровень HbA1c ниже 7% достигают целевых значений, рекомендуемых Американской Диабетической Ассоциацией (American Diabetes Association). HbA1c ниже ожидаемых значений могут указывать на недавние эпизоды гипогликемии, присутствие различных вариантов гемоглобина или уменьшения срока жизни эритроцитов.

Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения. Данные, полученные в разных лабораториях, могут отличаться.

Точность для цельной крови

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии n = 21; всего n = 30). Были получены следующие результаты (по DCCT/NGSP):

<i>Внутри серии</i>	<i>Среднее %HbA1c</i>	<i>SD %HbA1c</i>	<i>CV %</i>
Контроль уровень 1	6,13	0,049	0,81
Контроль уровень 2	11,2	0,060	0,54
Сыворотка 1	4,73	0,074	1,56
Сыворотка 2	11,1	0,072	0,65
<i>Общее</i>	<i>Среднее %HbA1c</i>	<i>SD %HbA1c</i>	<i>CV %</i>
Контроль уровень 1	6,21	0,122	1,96
Контроль уровень 2	10,7	0,328	3,06
Сыворотка 3	5,94	0,097	1,64

Сыворотка 4	7,93	0,165	2,08
-------------	------	-------	------

Точность для гемолизата

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроля по внутреннему протоколу (внутри серии $n = 21$; всего $n = 30$). Были получены следующие результаты (по DCCT/NGSP):

<i>Внутри серии Hb</i> <i>абсолютное значение</i>	<i>Среднее Hb г/дл</i>	<i>SD г/дл Hb</i>	<i>CV %</i>
Контроль уровень 1	11,7	0,061	0,52
Контроль уровень 2	11,7	0,053	0,45
Сыворотка 1	11,8	0,069	0,59
Сыворотка 2	12,6	0,085	0,67
<i>Общее HbA1c</i> <i>абсолютное значение</i>	<i>Среднее г/дл HbA1c</i>	<i>SD г/дл HbA1c</i>	<i>CV %</i>
Контроль уровень 1	0,55	0,008	1,44
Контроль уровень 2	1,16	0,011	0,92
Сыворотка 1	0,43	0,006	1,46
Сыворотка 2	1,29	0,006	0,48
<i>Внутри серии</i> <i>%HbA1c</i>	<i>Среднее %HbA1c</i>	<i>SD %HbA1c</i>	<i>CV %</i>
Контроль уровень 1	6,39	0,047	0,73
Контроль уровень 2	11,0	0,089	0,81
Сыворотка 1	5,50	0,044	0,80
Сыворотка 2	11,3	0,056	0,50
<i>Общее %HbA1c</i>	<i>Среднее %HbA1c</i>	<i>SD %HbA1c</i>	<i>CV %</i>
Контроль уровень 1	6,43	0,152	2,36
Контроль уровень 2	11,0	0,175	1,58
Сыворотка 1	6,31	0,145	2,33
Сыворотка 2	7,90	0,104	1,32

Сравнение методов в цельной крови. Значения %HbA1c в крови людей, полученные на анализаторе cobas c 111(y), сравнивались с подобной методикой, используемой на анализаторе COBAS INTEGRA 800 (x).

Образцы (n=78)

Passing/Bablok
 $y = 0,999x + 0,143$
 $r = 0,924$

Линейная регрессия
 $y = 1,001x + 0,124$
 $r = 0,997$

Значения %HbA1c 5,03 – 15,1.

Сравнение методов для гемолизата. Значения %HbA1c в крови людей, полученные на анализаторе cobas c 111(y), сравнивались с подобной методикой, используемой на анализаторе COBAS INTEGRA 800 (x).

Образцы (n=78)

Passing/Bablok
 $y = 1,026x + 0,006$
 $r = 0,894$

Линейная регрессия
 $y = 1,016x + 0,024$
 $r = 0,997$

Значения %HbA1c 5,02 – 15,4.

Кроме того, было выполнено сравнение метода определения %HbA1c для цельной крови и гемолизата. В случае использования образцов цельной крови после быстрого осаждения эти пробы могут быть проанализированы с использованием гемолизата с получением сравнимых результатов %HbA1c.

Сравнение методов для гемолизата и цельной крови.

Образцы (n=78)

Passing/Bablok
 $y = 1,002x - 0,033$
 $r = 0,915$

Линейная регрессия
 $y = 1,009x + 0,045$
 $r = 0,997$

Значения %HbA1c 5,05 – 15,5.

Аналитическая специфичность

Производные Hb Пре-HbA1c, ацетилированный Hb и карбонизированный Hb не влияют на результат определения.

Варианты Hb В образцах, имеющих высокое содержание HbF (>10%), результат может оказаться ниже, чем ожидаемые результаты HbA1c.

Внимание.

Различные протоколы для определения HbA1c по версиям IFCC и NGSP, используемые производителями, пока не повлияли на текущие величины HbA1c, рекомендуемые рабочими группами ADA/EASD/IDF. Это означает, что большинство стран должно продолжать сообщать о полученных результатах по протоколу DCCT/NGSP.

Ссылки

1. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JJ, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care* 1995;18:896-909.
2. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care* 1994;17:938-939.
3. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-986.
4. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 1993;42:1549-1554.
5. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-853.
6. Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycated haemoglobins. *J Chromatogr* 1988;429:279-292.
7. Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986;32:B64-B70.
8. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care* 2002;25:275-278.
9. Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science* 1978;200:21-27.
10. Zander R, Lang W, Wolf HU. Alkaline haematin D-575, a new tool for the determination of haemoglobin as an alternative to the cyanhaemoglobin method. I. Description of the method. *Clin Chim Acta* 1984;136:83-93.
11. Wolf HU, Lang W, Zander R. Alkaline haematin D-575, a new tool for the determination of haemoglobin as an alternative to the cyanhaemoglobin method. II. Standardization of the method using pure chlorohaemin. *Clin Chim Acta* 1984;136:95-104.
12. Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, Wilke AL, Rohlfing CL, Wians FH, et al. Interlaboratory standardization of measurements of glycohemoglobins. *Clin Chem* 1992;38:2472-2478.
13. Frank EL, Moulton L, Little RR, Wiedmeyer HM, Rohlfing C, Roberts WL. Effects of hemoglobin C and S traits on seven glycated hemoglobin methods. *Clin Chem* 2000;46(6):864-867.
14. Chang J, Hoke C, Ettinger B, Penerian G. Evaluation and interference study of hemoglobin A1c measured by turbidimetric inhibition immunoassay. *Am J Clin Pathol* 1998;109:274-278.
15. Kobold U, Jeppsson JO, Duelffer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997;43:1944-1951.
16. Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:78-89.
17. Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ. a-N-terminal glycohemoglobins in subjects with common hemoglobinopathies: relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem* 1993;39:2259-2265.
18. Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem* 1993;39:1717-1723.

19. American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with diabetes mellitus. Diabetes Care [Suppl] 18/1, 1995:8-15.
 20. Sacks BW, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2002;48:436-472.
 21. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
 22. Miedema K. Influence of hemoglobin variants on the determination of glycated hemoglobin. Klin Lab 1993;39:1029-1032.
 23. Niederau CM et al. Interference of non glucose-adducts on the determination of glycated hemoglobins. Klin Lab 1993;39:1015-1023.
 24. Rohlfing C, Connolly S, England J, Little R. Effect of elevated fetal hemoglobin on HbA1c measurements: four common assay methods compared to the IFCC reference method. Clin Chem 2006;52 Suppl 6:A108.
 25. Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods", Breuer J, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
 26. Junge, W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference levels in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation EUROMEDLAB, Barcelona 2003.
 27. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
 28. Report of the ADA/EASD/IDF Working Group of the HbA1c Assay. London, UK. January 20, 2004, EASD News Section 5/2004.
- 2007 Roche Diagnostics

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Гемолизирующий реагент ((A1CD2) Hemolyzing Reagent cobas c systems)

Гемолизирующий реагент

Кобас с системы

Информация о реагентах

Гемолизирующий реагент

Хранение реагента

При хранении реагента в холодильнике при температуре ниже 3°C, гемолизирующий реагент может становиться мутным. При увеличении температуры мутность может снова исчезать, это не влияет на функции реагента. Рекомендуется подержать реагент 10 минут при комнатной температуре, затем аккуратно перемешать, перед установкой на борт анализатора.

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA, PRECINORM и PRECIPATH являются торговыми марками Roche.

Другие наименования продуктов являются торговыми марками их владельцев.

©2009 Roche Diagnostics.

cobas c systems

cobas c 111

Номер по каталогу 05007232190



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Гемолизирующий реагент (Hemolyzing Reagent Gen.2 cobas Integra)

Гемолизирующий реагент

Кобас Интегра

Информация о реагентах

Гемолизирующий реагент

Номер по каталогу 04528328190

Хранение реагента

При хранении реагента в холодильнике при температуре ниже 3°C, гемолизирующий реагент может становиться мутным. При увеличении температуры мутность может снова исчезать, это не влияет на функции реагента. Рекомендуется поддержать реагент 10 минут при комнатной температуре, затем аккуратно перемешать, перед установкой на борт анализатора.

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA, PRECINORM и PRECIPATH являются торговыми марками Roche.

Другие наименования продуктов являются торговыми марками их владельцев.

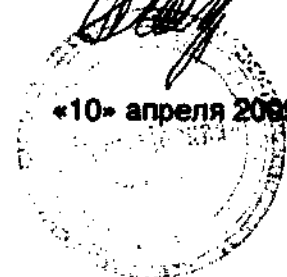
©2009 Roche Diagnostics.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров



«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Железо (Iron Gen.2 (IRON2) cobas c systems)

Железо (IRON2)

Кобас с системы

Информация о реагентах

Железо cobas c 111	4x50 тестов	Номер по каталогу 05135605190 IRON2: ACN 661
Калибратор CFAS	12x3 мл	Номер по каталогу 10759350190 Код 401
Контроль норма Preciporm U	20x5 мл	Номер по каталогу 10171743122 Код 300
Контроль патология Precipath U	20x5 мл	Номер по каталогу 10171778122 Код 301

Предписание для использования

Набор реагентов для количественного определения *in vitro* концентрации железа в сыворотке и плазме на анализаторе cobas c 111.

Теоретическое обоснование

Поступающее из пищи железо представлено в виде двухвалентных ионов Fe^{2+} . Реабсорбция железа происходит в двенадцатиперстной, тощей и подвздошных кишках. Трехвалентная и гемоглобинсвязанная формы железа Fe^{3+} в пище восстанавливаются при участии витамина С. В день в сыворотку крови поступает 1г железа. После достижения оболочки клеток, ионы железа Fe^{2+} связываются с транспортным веществом. Перед тем как поступить в плазму, ионы железа Fe^{2+} окисляются церулоплазмином до Fe^{3+} и далее связываются с трансферрином. Ионы железа в плазме крови в основном связаны с трансферрином. Каждая молекула трансферрина способна связать 2 атома железа.

Определение железа, не входящего в состав гемоглобина, используется в диагностике и лечении таких заболеваний как анемия, гемохроматоз (болезнь связанная с накоплением в тканях железосодержащего пигмента, гемосидерина, и характеризуется пигментацией кожи), и хронической почечной недостаточности. Определение железа проводится для диагностики и мониторинга микроцитарной анемии (например в результате нарушения метаболизма железа и гемоглобинопатии), макроцитарная анемия (в следствии дефицита витамина B_{12} , фолиевой кислоты и нарушение метаболизма, обусловленное действием лекарственных препаратов), а также для определений нормоцитарных анемий, таких как почечная анемия (дефицит эритропоэтина), гемолитическая анемия, гемоглобинопатия, заболевания костного мозга и токсические отравления костного мозга.

Для определения железа описано множество методов. Все они имеют следующие общие черты:

- 1) Выделение Fe^{3+} ионов из трансферринового комплекса, используя кислоты или детергенты
- 2) Восстановление Fe^{3+} ионов до Fe^{2+} ионов
- 3) Взаимодействие Fe^{2+} ионов для получения цветного комплекса.

Описанный в данной инструкции метод основан на феррозиновом методе без депротенинизации.

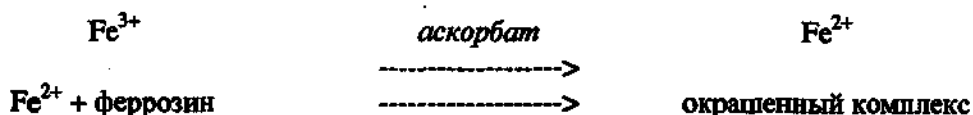
Принцип метода

Колориметрический метод

трансферин-железо комплекс

$pH < 2,0$

апотрансферрин + Fe^{3+}



В кислой среде происходит диссоциация комплекса трансферрин-железо с высвобождением ионов железа. Липемичные образцы проясняют с помощью детергента. Аскорбат восстанавливает Fe^{3+} до Fe^{2+} ионов, которые реагируют с феррозином и образуют окрашенный комплекс.

Интенсивность формирования цветности хромогена прямо пропорциональна концентрации железа и измеряется фотометрически.

Реагенты

Готовы к использованию.

R1 Лимонная кислота: 200 ммоль/л, тиомочевина: 115 ммоль/л, детергент

SR аскорбат натрия: 150 ммоль/л; феррозин: 6 ммоль/л; консерванты

Меры предосторожности и предупреждения

Только для *in vitro* диагностики

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.

Любой остаток реагента должен быть удалён после рекомендуемого срока использования его на борту анализатора (см. ниже).

Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение и стабильность реагентов

Хранение при 2-8°C

Смотрите срок годности на упаковке

В приборе при использовании холодильника 4 недели анализатора

При удалении реагента из анализатора в течении использования, немедленно помещайте его в холодильник (2-8°C).

Не встряхивайте реагент для избежания вспенивания.

Избегайте действия прямого солнечного света.

Сбор и подготовка образцов

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Сыворотка не гемолизированная

Плазма не гемолизированная. Li-гепариновая. Не используйте ЭДТА или оксалат.

Отделите сыворотку и плазму от стустков и клеток не позже чем через час.

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя.

Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Стабильность

Сыворотка/плазма 7 дней при 15 - 25°C

3 недели при 2 - 8°C

несколько лет при (-15)-(-25)°C

Протокол измерения

Для оптимального проведения исследования следуйте указаниям данного документа.

Ознакомьтесь с инструкцией оператора для анализатора, указанного в инструкции.

Использование протокола измерения, не подтвержденного Roche, не гарантирует корректного результата и должно определяться потребителем.

Протокол измерения для плазмы cobas c 111 system

Режим измерения	Оптическая плотность	
Режим расчёта	Конечная точка	
Направление реакции	Возрастание	
Длины волн A/B	552/659 нм	
Точки измерения: первая/последняя	26/30	
Единицы измерения	мкмоль/л	
Последовательность дозирования	R1-S-SR	
Параметры дозирования		
<i>Сыворотка/плазма</i>		Дилуэнт (H ₂ O)
R1	100 мкл	
Образец	8,5 мкл	11,5 мкл
SR	20 мкл	20 мкл
Общий объём	160 мкл	
Калибровка		
Калибратор	CFAS	
	В качестве нулевого калибратора используйте деионизированную воду	
Режим калибровки	Линейная регрессия	
Интервал калибровки	Каждый лот, после 28 дней на борту, по результатам контроля качества.	

Стандартизация: метод стандартизован по отношению к первичному стандарту (SRM 937).

Контроль качества

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Пересчёт

Анализатор cobas c 111 автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце.

Факторы пересчёта:

$$\begin{aligned} \text{мкмоль/л} \times 5,59 &= \text{мкг/дл} \\ \text{мкмоль/л} \times 0,0559 &= \text{мг/л} \\ \text{мкг/дл} \times 0,179 &= \text{мкмоль/л} \\ \text{мкг/дл} \times 0,010 &= \text{мг/л} \end{aligned}$$

Факторы, влияющие на результаты

Критерий: Восстановление в пределах $\pm 10\%$ от начального значения железа 26,9 мкмоль/л (150 мкг/дл) в сыворотке.

Сыворотка/плазма

Иктеричность Не оказывает значимого влияния до значения 60 индекса I для конъюгированного и неконъюгированного билирубина (приблизительное значение концентрации конъюгированного и неконъюгированного билирубина: 1026 мкмоль/л (60 мг/дл)).

Гемолиз	Не оказывает значимого влияния до значения индекса Н 900 (приблизительная концентрация гемоглобина: 559 мкмоль/л (900 мг/дл). Концентрация гемоглобина выше допустимой приводит к завышенным значениям концентрации железа, из-за наличия в образце гемоглобинсвязанного железа.
Липемия	Не оказывает значимого влияния до значения 2000 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.
Лекарственные препараты	Не оказывают влияния. Содержащееся в лекарственных препаратах железо не может участвовать в тесте из-за низкого содержания.
Другое	В очень редких случаях моноклональная гаммапатия может привести к неправильным результатам.

Дополнительная промывка

Не известно никаких влияний, требующих дополнительной промывки.

Измеряемый интервал

Сыворотка/плазма 1,0-179 мкмоль/л (5,59-1000 мкг/дл, 0,06-10,0 мг/л)

Расширенный диапазон измерения (расчетный)

Фактор разведения 5

Нижний предел обнаружения 1 мкмоль/л (5,59 мкг/дл, 0,06 мг/л)

Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше нулевого образца.

Ожидаемые значения

Сыворотка/плазма
женщины 6,6 - 26 мкмоль/л (37-145 мкг/дл, 0,37-1,45 мг/л)

мужчины 11 - 28 мкмоль/л (59-158 мкг/дл, 0,59-1,58 мг/л)

Уровень железа в сыворотке/плазме зависит от диеты и индивидуальной суточной вариации.

Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут отличаться. В диагностических целях значения, полученные при тестировании, всегда должны оцениваться в учётом истории болезни пациента, клиническими обследованиями и другими анализами.

Точность

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии $n = 21$; общее $n = 30$). Были получены следующие результаты:

Сыворотка/плазма

Внутри серии	Среднее мкмоль/л (мкг/дл)	SD мкмоль/л (мкг/дл)	CV %
Precinorm U	25,6 (143)	0,37 (2,07)	1,45
Precipath U	35,8 (200)	0,41 (2,29)	1,13
Сыворотка 1	19,4 (108)	0,27 (1,51)	1,39
Сыворотка 2	90,1 (504)	0,43 (2,40)	0,48
Всего	Среднее мкмоль/л (мкг/дл)	SD мкмоль/л (мкг/дл)	CV %
Precinorm U	20,4 (114)	0,527 (2,95)	2,58
Precipath U	31,3 (175)	0,742 (4,15)	2,38
Сыворотка 3	24,0 (134)	0,604 (3,38)	2,52
Сыворотка 4	87,0 (486)	0,766 (4,28)	0,88

Сравнение методов

Значения железа в сыворотке и плазме людей, полученные на анализаторе cobas c 111(y), сравнивались с подобной методикой, используемой на анализаторе COBAS INTEGRA 400 (x).

Сыворотка/плазма (n=88)

Passing/Bablok

$y = 0,992x + 0,027$ мкмоль/л

$r = 0,981$

Линейная регрессия

$y = 0,990x + 0,186$ мкмоль/л

$r = 0,999$

Концентрация проб: 2,7 – 176 мкмоль/л (15 – 984 мкг/дл).

Ссылки

1. Wick M, Pinggera W, Lehmann P ed. Eisenstoffwechsel, Diagnostik und Therapie der Anämien, 3rd ed. Wien/New York: Springer Verlag, 1996.
2. Bernat I. Eisenresorption. In: Bernat I ed. Eisenstoffwechsel. Stuttgart/New York: Gustav Fischer, 1981:68-84.
3. Bernat I. Eisenresorption. In: Bernat I ed. Eisenstoffwechsel. Stuttgart/New York: Gustav Fischer, 1981:36-37.
4. de Jong G, von Dijk IP, van Eijk HG. The biology of transferrin. Clin Chim Acta 1990;190:1-46.
5. Siedel J, Wahlefeld AW, Ziegenhorn J. A new iron ferrozine reagent without deproteinization. Clin Chem 1984;30:975 (AACC-Meeting Abstract).
6. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes; Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996.
7. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002.
8. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
9. Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods", Breuer J, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
10. Weippl G, Pantlitschko M, Bauer P et al. Normal values and distribution of single values of serum iron in cord blood. Clin Chim Acta 1973;44:147-149.
11. Einer G, Zawta B. Präanalytikfibel, 2nd ed. Leipzig/Heidelberg: Verlag AW Barth, 1991.
12. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

2008 Roche Diagnostics



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров
О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Ферритин (Tina-quant Ferritin Gen.4 (FERR Gen.4) cobas c systems)
Ферритин (Tina-quant Ferritin Gen.4 (FERR Gen.4) Roche/Hitachi)

ФЕРРИТИН (FERRITIN)

Информация о реагентах

• Обозначены Roche/Hitachi анализаторы, на которых данный набор может использоваться

Кат. №	Флакон	Объем	902	912	917	Modular	
						P	D
04885627190	1	4x18 мл					
	2	4x108 мл	•	•			
05123895190	1	2x56 мл			•	•	
	2	2x56 мл					
04885317190		250 тестов	Cobas c 311/501				

Стандарт
Контроль

Ferritin Std 6 x 1.0 мл арт. 0751847
FERR/MYO Control 1 x 3 мл арт. 0751863

Предназначение

Набор (кассета) «Ferritine» содержит систему реагентов для диагностики *in vitro*, предназначенную для использования на анализаторах Roche/Hitachi для количественного иммунологического определения ферритина человека в сыворотке.

Теоретическое обоснование

Ферритин - основной белок, депонирующий железо в организме человека. Концентрация ферритина в крови соответствует запасам железа в организме. Находится, в основном, в цитоплазме клеток РЭС, печени, селезенки и костного мозга. Определение концентрации ферритина необходимо для проведения диагностики расстройств метаболизма железа, постановки дифференциального диагноза при различных анемиях, выявления групп риска по дефициту железа.

Метод

Иммунотурбидиметрический

Принцип метода

Человеческий Ферритин агглютинирует с латексными частицами, на которых закреплены антитела к человеческому ферриту. Степень помутнения раствора определяется турбидиметрически при 552 нм.

Реагенты

2 (жидкости)

R1 глициновый буфер с бычьим сывороточным альбумином, стабилизированный 0.09% азидом натрия во флаконе В

R2 Латексные частицы в глициновом буфере покрытые антителами к человеческому ферритину, во флаконе С

Хранение и стабильность На полке при +2 - +8 °С См. срок годности на упаковке

При использовании при +8- +10 °С 12 недель

Дополнительно необходимо NaCl 9.0% (в 10 раз более концентрированный, чем изотонический солевой раствор) для последующего автоматического разбавления.

Готовят 9.0% раствор NaCl, используя коммерческий хлорид натрия в таблетках или в виде концентрированного солевого раствора.

Раствор NaCl помещают в пробирки для растворителя, находящиеся в предварительно определенных местах в штативе (Racks)

Образец Сыворотка или плазма (антикоагулянт: Гепарин литиевый)

Сыворотка должна быть немедленно отделена от сгустков и быстро проанализирована.

Хранение образцов

7 дней при комнатной т-ре

7 дней при +2 +8 °С

1 год замороженными при -20 °С. Избегайте повторного замораживания и оттаивания.

Мешающие факторы влияния. Гемолиз нет значительного

влияния. Желтуха нет значительного

влияния. Липемия нет значительного влияния

Ожидаемые результаты (норма)

Дети

3 мес - 16 лет

20 – 200 нг/мл

2-3 мес

80 – 500 нг/мл

1-ый месяц	150 – 450 нг/мл
из пуповины	50 – 250 нг/мл
Женщины	15 -150 нг/мд
Мужчины	30 - 400 нг/мл

Результаты, полученные разными лабораториями могут отличаться

Характерное представление данных

Достоверность

Уровень ферритина для образцов человеческой сыворотки, полученный на Кобас Интегра с использованием Набором (кассетой) “Ферритин” сравнили с уровнем, полученным с использованием реагентов для ферритина на альтернативной коммерческой автоматизированной системе

Измерения проводились в двух параллельных пробах. Величина образца (n) представлена репликами.

		Кобас Интегра
Альтерн. система		
К-во образцов(n)		94
100		
Кэффициент корреляции (r)		0.939
0.923		
	(r _s)	0.760
0.774		
Линейная регрессия		$y = 0,84x + 11$
IU/мл	$y = 0.53x + 7$ IU/мл	
Критерий Беблока		$y = 0,89x + 8,1$
IU/мл	$y = 0.65x - 6$ IU/мл	

Чувствительность

Чувствительность определяется наименьшая концентрация достоверно отличная от нуля Она рассчитывается на основе 30 измерений в сыворотках, с нулевой концентрацией ферритина и составляет 7,5 нг/мл

Точность

Точность оценивалась на Кобас Интегра с использованием двух пулов человеческой сыворотки и следуя рекомендациям руководства NCCLS EP5-T2.

	Уровень 1	Уровень 2
Среднее	19,8 нг/мл	107,5 нг/мл
КВ внутри ряда	9,0 %	2,5 %
КВ день ото дня	7,8 %	3,4 %



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ФАО «Рос-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:
Общий билирубин (Total Bilirubin liquid (TBIL) Roche/Hitachi)

Общий билирубин

Информация о реагентах

• Обозначены Roche/Hitachi анализаторы, на которых данный набор может использоваться

Кат.№	Флакон	Объем	902	912	917	Modular	
						P	D
11822713190	1	6x62 мл					
	2	6x19 мл			•	•	
11822730190	1	12x44 мл					
	2	6x26 мл	•	•	•		
11877941190	1	6x250 мл					
11877950190	2	6x80 мл				•	•

Калибратор C.f.a.s. (Calibrator for automated systems) 12 x 3.0 мл

Кат.№ 10759350190

Контроль Precinorm U 20 x 5.0 мл

Кат.№ 10171743122

Precipath U 20 x 5.0 мл

Кат.№ 10171778122

Дилуэнт NaCl 9%

Назначение набора Набор для определения общего билирубина содержит систему реагентов для *in vitro* диагностики, предназначенную для использования на анализаторах Roche/Hitachi 902/911/912/917/ Modular P,D, для количественного определения общего билирубина в сыворотке и плазме новорожденных и взрослых..

Клиническое значение и физиологическая функция

Билирубин является органическим соединением, образующимся в ретикулоэндотелиальной системе в результате нормальной или аномальной утилизации эритроцитов. Определение концентрации билирубина используется для диагностики заболеваний печени, гемолитической анемии, и оценки степени желтухи. С момента появления диазо метода для определения билирубина в 1883 году Ehrlich, было предложено несколько модификаций для улучшения реакции. Метод Malloy и Evelyn использует метанол для катализа реакции азосочетания непрямого билирубина, а также сохранения азобилирубина в растворе. Серьезным недостатком этого метода является осаждение белков раствором метанола, что приводит к ложно заниженным результатам. В 1938 году Jendrassik и Grof представили тест, дающий точные результаты. Однако метод оказался очень громоздким и включал несколько шагов: пипетирования. В методе, разработанном Wahlefeld и другими, детергент ускоряет реакцию и препятствует осаждению белков. Диазо реагент представляет собой 2,5-дихлорофенилдиазоний тетрафторбората (DPD), который реагирует очень быстро с билирубином в кислой среде. Метод прост и дает хорошую корреляцию с методом Jendrassik и Grof. Новый метод, описанный здесь, использует новый ион диазония, который крепко связывает билирубин и уменьшает влияние гемоглобина и индикана.

Принцип метода

Общий билирубин, в присутствии соответствующего растворяющего агента, связывается с ионом диазония в кислой среде.

кислотная среда

Билирубин + ион диазония → азобилирубин

Интенсивность окрашивания образовавшегося азобилирубина пропорциональна концентрации общего билирубина и может быть измерена фотометрически.

Реактивы жидкие, готовые к употреблению

R1 Натриевом ацетатном буфере: 85 ммоль/л; сульфаминовая кислота: 110 ммоль/л; суфрантант; растворитель

R2 HCl: 100 ммоль/л; ион диазония: 3 ммоль/л

Меры безопасности

Предназначается для диагностики *in vitro*.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Обращение с реактивами

Реагенты готовы к использованию.

Замечание: Со временем возможно незначительное изменение цвета или появление осадка во флаконе R2. Это не влияет на результаты

Хранение и стабильность

Невскрытый флакон при 2 - 8°C:

См. срок годности на флаконе

После вскрытия при 2 - 8°C:

35 дней

Сбор и подготовка образцов

Сыворотка: калий ЭДТА или литий гепариновая плазма. Не используйте пуповинную кровь.

Центрифугируйте образцы, содержащие включения перед проведением теста.

Проводите исследования немедленно.

Берегите образцы от света.

Процедура проведения анализа

Для оптимального проведения анализа важно следовать указаниям по работе с используемым анализатором и проверить, имеется ли в системе достаточный запас аналитических материалов и других расходных материалов.

Калибровка**Калибратор****Интервал калибровки****CFAS**

Каждые 7 дней, после смены флаконов, после смены лота реагента, по запросу процедуры контроля качества.

Метод был стандартизован по отношению к методу Doumas.

Контроль качества

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Расчет результатов

Анализатор автоматически вычисляет результаты концентрации общего билирубина в каждом образце.

Факторы пересчета:

$$\text{мг/дл} \times 17.1 = \text{мкмоль/л}$$

Ограничения – интерференция

Для образцов с содержанием билирубина до 4 мг/дл: воспроизводимость в пределах ± 0.4 мг/дл (6,8 мкмоль/л)

Для образцов с содержанием билирубина более 4 мг/дл: воспроизводимость в пределах $\pm 10\%$ от начального значения

Гемолиз

Не оказывает значимого влияния до значения 1000 индекса H (приблизительное значение концентрации гемоглобина: 1000 мг/дл, 10000 мг/л, или 621 мкмоль/л)

Липемия

Не оказывает значимого влияния до значения 1000 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.

Антикоагулянты

Неполностью гепаринизированные пробирки могут завышать результаты. Перепроверяйте результаты определения общего билирубина у новорожденных в гепариновых образцах в зоне выбора метода лечения.

Индиксан

Не оказывает значимого влияния до значений выше 10 мг/дл или 100 мг/л

Другие

Очень редкие случаи гаммапатий, в частности, макроглобулинемия Вальденстрема (типа IgM) могут вызвать получение недостоверных результатов

Перенос

Для исключения загрязнения зонда после определения общего билирубина, перед определением кальция используйте функцию Evation с SMS/Acid Wash на анализаторах Roche/Hitachi 902/904/911/912/917/Modular P.

Измеряемый интервал

Сыворотка: 0,1 – 35,0 мг/дл (1,71 – 598,5 мкмоль/л)

Если полученная концентрация гемоглобинов выходит за эти пределы, в ручную разведите образец 1+1 0,9% NaCl. Результат

умножьте на фактор 2.

Ожидаемые результаты

Взрослые и дети	Выше 1,0 мг/дл (17,1 мкмоль/л)
Новорожденные (преждевременные роды)	
24 часа	1,0 – 6,0 мг/дл (17,1 – 102,6 мкмоль/л)
48 часов	6,0 – 8,0 мг/дл (102,6 – 136,8 мкмоль/л)
3-5 дней	10,0 – 15,0 мг/дл (171 – 256,5 мкмоль/л)
Новорожденные (рожденные в срок)	
24 часа	2,0 – 6,0 мг/дл (34,2 – 102,6 мкмоль/л)
48 часов	6,0 – 7,0 мг/дл (102,6 – 119,7 мкмоль/л)
3-5 дней	4,0 – 12,0 мг/дл (68,4 – 205,2 мкмоль/л)

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых (нормативных) результатов на популяцию собственных пациентов и, в случае необходимости, определить свои собственные нормативные диапазоны.

Результаты, полученные с использованием данного или любого другого диагностического набора, следует использовать и интерпретировать только в контексте общей клинической картины и результатов других диагностических исследований

Аналитические характеристики

Точность Воспроизводимость была определена с использованием образцов человеческой сыворотки и контролей (n-число исследованных образцов). Были получены следующие данные:

Образец	Внутри серии (n=21)			Между сериями (n=10)		
	Среднее		CV, %	Среднее		CV, %
	Мг/дл	Мкмоль/л		Мг/дл	Мкмоль/л	
Precitrol-N	0,87	14,9	3,1	0,86	14,7	2,2
Control						
Precitrol-A	4,34	74,2	0,84	4,42	75,6	0,45
Control						

Аналитическая чувствительность (нижний предел определения): 0,1 мг/дл (1,71 мкмоль/л)

Предел обнаружения представляет собой самую малую концентрацию общего билирубина, которая может быть обнаружена как отличная от нуля. Она вычислена как концентрация, лежащая на 3 стандартных отклонения выше низкого стандарта (низкий стандарт общего билирубина + 3 SD, воспроизводимость в пределах серии, n = 21).

Метод сравнения Уровень общего билирубина для образцов человеческой сыворотки, полученный на анализаторе Hitachi 911 (x) с использованием данного набора сравнили с уровнем, полученным с использованием другого метода определения общего билирубина (y). Была получена следующая корреляция (мг/дл):

Сыворотка/плазма (n=80)

Passing/Bablok

$$y=1.044x - 0,035$$

$$r=0,970$$

Концентрация проб: 0,10 – 7,65 мг/дл

Линейная регрессия

$$y=1.050x - 0,056$$

$$r=0,998$$

Библиография

- 1.Ehrlich P. Charite Ann 1883;8:140.
- 2.Malloy HT, Evelyn KA. J Biol Chem 1937;119:148.
- 3.Jendrassik L, Grof P. Biochem Z 1938;297:81.
- 4.Wahlefeld AW, et al. Scand J Clin Lab Invest 1972;29:Supplement 126.
- 5.Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co 1995:88.
- 6.Sherlock S. Liver Disease. 1951 Churchill, London.
- 7.Meites S. Pediatric Clinical Chemistry: A Survey of Normals, Methods, and Instrumentation, with Commentary. Washington, DC 1977:48.
- 8.Bablok W et al. A general regression procedure for method transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Параметры настройки

Для анализаторов Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 и Modular введение параметров аппликации осуществляется через аппликационную дискету, баркоды.

Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	
1	Test Name	TBILI
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End
3	Assay Code (2. Tcst)	0
4	Reaction Time	5
5	Assay Point 1	4
6	Assay Point 2	15
7	Assay Point 3	0
8	Assay Point 4	0
9	Wavelength (SUB)	600
10	Wavelength (MAIN)	546
11	Sample Volume	4.0
12	R1 Volume	250
13	R1 Pos.	
14	R1 Bottle Size	Large
15	R2 Volume	65
16	R2 Pos.	
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	0
19	R3 Pos.	0
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Conc. 1	0.00
24	Calib. Pos. 1	
25	Calib. Conc. 2	
26	Calib. Pos. 2	
27	Calib. Conc. 3	0
28	Calib. Pos. 3	0
29	Calib. Conc. 4	0
30	Calib. Pos. 4	0
31	Calib. Conc. 5	0
32	Calib. Pos. 5	0

33	Calib. Conc. 6	0
34	Calib. Pos. 6	0
35	S1 ABS	0
36	K Factor	10000
37	K2 Factor	10000
38	K3 Factor	10000
39	K4 Factor	10000
40	K5 Factor	10000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	0.1
45	Duplicate Limit	30
46	Sens. Limit	229
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000
48	S1 Abs. Limit (H)	32000
49	Abs. Limit	0
50	Abs. Limit (D/I)	Increase
51	Prozone Limit	32000
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Upper
53	Prozone (Endpoint)	35
54	Expect. Value (L)	
55	Expect. Value (H)	
56	Instr. Fact. (a)	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0
58	Key setting	

..... Данные, вводимые оператором.

Roche Diagnostics
Редакция: 2009



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

С.В. Нестеров
С.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:
Ревматоидный фактор (Tina-quant RF II (RFII) Roche/Hitachi)

Ревматоидный фактор

Информация о реагентах

• Обозначены Roche/Hitachi анализаторы, на которых данный набор может использоваться

Кат.№	Флакон	Объем	902	912	917	Modular	
						P	D
03004902122	1	6x19 мл	•	•	•	•	
	2	6x7 мл					
03004953122	1	6x56 мл			•	•	
	2	6x20 мл					

Калибратор Preciset RF
Контроль Control Set RF

5 x 1.0 мл
2 x 1.0 мл Level I
2 x 1.0 мл Level II

Кат.№ 12172828322
Кат.№ 03005496122

Дилуэнт NaCl 9%

Назначение набора Предназначен для количественного определения ревматоидного фактора в сыворотке и плазме человека иммунотурбидиметрическим методом на автоматических биохимических анализаторах Roche/Hitachi.

Клиническое значение и физиологическая функция

Ревматоидные факторы являются гетерогенной группой аутоантител, направленных против антигенных детерминант в Fc-части молекулы IgG. Они необходимы в диагностике ревматоидных артритов, но могут обнаруживаться и при других инфекционных ревматоидных артритах и других различных не ревматоидных артритах. Они также могут определяться у здоровых людей, возраст которых более 60 лет. Несмотря на эти ограничения, определение ревматоидного фактора является диагностическим признаком для классифицирования ревматоидных артритов. Аутоантитела появляются для всех классов иммуноглобулинов, хотя обычные методы ограничены определением ревматоидного фактора для IgM.

Классическим методом для количественного определения ревматоидного фактора является агглютинация с IgG-сенситивизированными овечьими эритроцитами или латексными частицами.

Заслуживают особого внимания проблемы этих полуколичественных методов такие как низкая точность и воспроизводимость между лабораториями, а также трудности стандартизации. Поэтому были разработаны такие новые методы как нефелометрия, турбидиметрия, ферментно-иммунологические методы и радиоиммуноанализ. Roche RF метод основан на принципе иммунологической агглютинации с латексным усилением.

Принцип метода

Иммунотурбидиметрический метод (латексное усиление)

Связанные с латексом, активированные теплом IgG (антитела) реагируют с антителами к ревматоидному фактору в образце, что приводит к формированию комплекса антиген/антитело, который, при последующей агглютинации, определяется турбидиметрически.

Реактивы жидкие, готовые к употреблению

R1 Глициновый буфер: 170 ммоль/л; pH: 8,0; полиэтиленгликоль 0,05%; бычий сывороточный альбумин; консерванты и стабилизаторы

R2 Латексные частицы покрытые человеческим IgG; глициновый буфер: 170 ммоль/л; pH: 7,3; консерванты

Меры безопасности

Предназначается для диагностики in vitro.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Обращение с реактивами

Реагенты готовы к использованию.

Хранение и стабильность

Невскрытый флакон при 2 - 8°C:

См. срок годности на флаконе

После вскрытия при 2 - 8°C:

90 дней

Сбор и подготовка образцов

Сыворотка:

Плазма: Li/Na-гепаринированная, Na₂-K₂-K₃-ЭДТА плазма

Центрифугируйте образцы, содержащие включения перед проведением теста.

Стабильность 24 часа при 15-25°C
3 дня при 2-8°C
4 недели при (-15)-(-25)°C
Не замораживать повторно

Процедура проведения анализа

Для оптимального проведения анализа важно следовать указаниям по работе с используемым анализатором и проверить, имеется ли в системе достаточный запас аналитических материалов и других расходных материалов.

Калибровка

Калибратор

S1: 0,9% NaCl
S2-5: Preciset RF

Интервал калибровки После смены лота реагента, по запросу процедуры контроля качества.

Метод был стандартизован с использованием WHO стандарта 64/2

Контроль качества

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Расчет результатов

Анализатор автоматически вычисляет результаты концентрации ревматоидного фактора в каждом образце.

Ограничения – интерференция

Воспроизводимость в пределах $\pm 10\%$ от начального значения

Иктеричность

Не оказывает значимого влияния до значения 60 индекса I для конъюгированного и неконъюгированного билирубина (приблизительное значение конъюгированного и неконъюгированного билирубина – 1026 мкмоль/л (60 мг/дл)).

Гемолиз

Не оказывает значимого влияния до значения 1000 индекса H (приблизительное значение концентрации гемоглобина: 1000 мг/дл, 10000 мг/л, или 621 мкмоль/л)

Липемия

Не оказывает значимого влияния до значения 500 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.

Эффект высокой дозы

Не оказывает значительного влияния до значения активности ревматоидного фактора до 6000 Е/мл

Другие

Очень редкие случаи гаммапатий, в частности, макроглобулинемия Вальденстрема (типа IgM) могут вызвать получение недостоверных результатов

Измеряемый интервал

7 – 130 Е/мл

Roche/Hitachi 902:

Если полученная концентрация ревматоидного фактора выходит за эти пределы, в ручную разведите образец 1+1 0,9% NaCl. Результат умножьте на фактор 2.

Roche/Hitachi 904/911/912/917/Modular P:

Расширенный диапазон при разведении: 7 – 650 Е/мл

Ожидаемые результаты

Взрослые < 14 Е/л

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых (нормативных) результатов на популяцию собственных пациентов и, в случае необходимости, определить свои собственные нормативные диапазоны.

Результаты, полученные с использованием данного или любого другого диагностического набора, следует использовать и интерпретировать только в контексте общей клинической картины и результатов других диагностических исследований

Аналитические характеристики

Точность

Воспроизводимость была определена с использованием образцов человеческой сыворотки и контролей (n-число исследованных образцов). Были получены следующие данные:

Внутри серии (n=21)

Между сериями (n=21)

Образец	Среднее, Е/мл	SD, Е/мл	CV, %	Среднее, Е/мл	SD, Е/мл	CV, %
Control Level 1	22.0	0.19	0.86	20.0	1.07	5.33
Control Level 2	49.3	0.26	0.52	48.2	1.01	2.10
Сыворотка 1	18.1	0.27	1.48	17.5	0.81	4.66
Сыворотка 2	55.2	0.25	0.46	57.7	1.43	2.48

Аналитическая чувствительность (нижний предел определения): 6.6 Е/мл

Предел обнаружения представляет собой самую малую концентрацию ревматоидного фактора, которая может быть обнаружена как отличная от нуля. Она вычислена как концентрация, лежащая на 3 стандартных отклонения выше низкого стандарта (низкий стандарт СРБ + 3 SD, воспроизводимость в пределах серии, n = 21).

Метод сравнения Сравнение между Roche Tina-quant RF II (y) с имунотурбидиметрическим RF Roche Cobas Integra (x) дало следующую корреляцию в человеческой сыворотке (Е/мл)

Сыворотка (n=50)

Passing/Bablok

$$y=1.097x - 2.69$$

$$n=0.958$$

$$SD (md 95)=3.01$$

Концентрация проб: 2,1 – 115,9 Е/мл

Линейная регрессия

$$y=1.075x - 2.45$$

$$r=0.9998$$

$$S_{y,x}=1.58$$

Библиография

1. Borque L, Barozzi D, Ferrari L et al. The Determination of Rheumatoid Factors by an Immunoturbidimetric Assay on Boehringer Mannheim/Hitachi Analysis Systems. Klin Lab 1994;40:445–453.
2. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988;31:315–324.
3. Bartfield H. Distribution of rheumatoid factor activity in non-rheumatoid states. Ann NY Acad Sci 1969;168:30–40.
4. Waaler E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. Acta Pathol Microbiol Scand 1940;17:172–178.
5. Moore TL, Dornier RN. Rheumatoid factors. Clin Biochem 1993; 26:75–84.
6. Roberts-Thomson PJ, McEvoy R, Langhans T, Bradley J. Ann Rheum Dis 1985;44:379–383.
7. Borque L, Yago M, Mar C, Rodriques C. Clin Chem 1986; 32:124–129.
8. Bampton JL, Cawston TE, Kyle MV, Hazeleman BL. Ann Rheum Dis 1985;44:379–383.
9. Koopman WJ, Schrotenloker RE. Arthritis Rheum 1980; 23:302–308.
10. Jaspers JP, Van Oers RJM, Leerkes B. Nine Rheumatoid Factor Assays Compared. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:863–871.
11. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. 29 CFR 1910.1030. Fed. Register July 1, 2001;17:260–273.
12. Directive 2000/54/EC. Official Journal of the European Communities No. L262 from October 17, 2000.
13. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory, 2nd edition, Darmstadt: GIT-Verlag, 2001.
14. Data on file at Roche Diagnostics.
15. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
16. Reference Ranges for Adults and Children, Pre-Analytical Considerations. Heil W, Koberstein R, Zawta B (published by Roche 2004).
17. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

Параметры настройки

Для анализаторов Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 и Modular введение параметров апликации осуществляется через апликационную дискету, баркоды.

Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	
1	Test Name	RF2
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End
3	Assay Code (2. Test)	0
4	Reaction Time	10
5	Assay Point 1	19
6	Assay Point 2	28
7	Assay Point 3	0
8	Assay Point 4	0
9	Wavelength (SUB)	800
10	Wavelength (MAIN)	570
11	Sample Volume	8.0
12	R1 Volume	240
13	R1 Pos.	
14	R1 Bottle Size	Small
15	R2 Volume	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	80
19	R3 Pos.	
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Logit-Log4
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Conc. 1	
24	Calib. Pos. 1	
25	Calib. Conc. 2	
26	Calib. Pos. 2	
27	Calib. Conc. 3	
28	Calib. Pos. 3	
29	Calib. Conc. 4	
30	Calib. Pos. 4	
31	Calib. Conc. 5	
32	Calib. Pos. 5	
33	Calib. Conc. 6	
34	Calib. Pos. 6	

35	S1 ABS	0	
36	K Factor	10000	
37	K2 Factor	10000	
38	K3 Factor	10000	
39	K4 Factor	10000	
40	K5 Factor	10000	
41	A Factor	0	
42	B Factor	0	
43	C Factor	0	
44	SD Limit	150	
45	Duplicate Limit	300	
46	Sens. Limit	2500	
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000	
48	S1 Abs. Limit (H)	32000	
49	Abs. Limit	0	
50	Abs. Limit (D/I)	Increase	
51	Prozone Limit	32000	
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Upper	
53	Prozone (Endpoint)	35	
54	Expect. Value (L)		
55	Expect. Value (H)		
56	Instr. Fact. (a)	1.0	
57	Instr. Fact. (b)	0.0	
58	Key setting		

..... Данные, вводимые оператором.

Roche Diagnostics
Редакция: 2009



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

**Калибратор Гомоцистеина (Homocysteine Calibrator Kit (HCY Calibrator Kit)
cobas c systems)**

HCY Calibrator Kit

Набор калибраторов гомоцистеина

Кат. № 05142431190

Фасовка 2x3 мл

Назначение

Набор калибраторов гомоцистеина предназначен для калибровки метода для количественного определения концентрации гомоцистеина реагентами фирмы Рош на автоматическом биохимическом анализаторе cobas c111.

Реагенты

Жидкий калибратор содержит человеческую сыворотку и химические добавки, консерванты ($\text{NaN}_3 < 1\%$).

Меры предосторожности

Только для IN VITRO диагностики.

Использовать все меры предосторожности, принятые в лабораторной практике. Стандарт приготовлен из крови доноров, каждая из которых индивидуально проверена на наличие HbsAg, антител к HIV и HCV.

Однако, ни один из существующих методов не дает 100% гарантии, нельзя исключить возможность заражения контрольным материалом. Поэтому при работе с ним нужно соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов.

Подготовка к работе

Калибраторы жидкие, готовы к использованию. Перед использованием аккуратно перемешайте. Избегайте образования пены.

Хранение и стабильность

Не вскрытые флаконы хранятся при температуре 2 – 8°C до срока, указанного на этикетке.

Не замораживать!

Процедура измерения

Процедура работы с калибраторами полностью совпадает с процедурой определения в пробах и выполняется в соответствии с инструкцией для анализатора cobas c111.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рос-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

**Контроль Гомоцистеина (Homocysteine Control Kit (HCY Control Kit)
cobas c systems)**

HCY Control Kit

Набор контролей гомоцистеина

Кат. № 05142423190

Фасовка 1х3 мл, уровень 1

1х3 мл, уровень 2

Назначение

Набор контролей гомоцистеина предназначен для проведения процедуры контроля качества для набора для определения концентрации гомоцистеина на автоматическом биохимическом анализаторе cobas c111.

Реагенты

Жидкий контроль, уровень 1 и 2, содержит человеческую сыворотку и химические добавки, консерванты ($\text{NaN}_3 < 1\%$).

Меры предосторожности

Только для IN VITRO диагностики.

Использовать все меры предосторожности, принятые в лабораторной практике.

Контроль приготовлен из крови доноров, каждая из которых индивидуально проверена на наличие HbsAg, антител к HIV и HCV.

Однако, ни один из существующих методов не дает 100% гарантии, нельзя исключить возможность заражения контрольным материалом. Поэтому при работе с ним нужно соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов.

Подготовка к работе

Контроли жидкие, готовы к использованию. Перед использованием аккуратно перемешайте. Избегайте образования пены.

Хранение и стабильность

Не вскрытые флаконы хранятся при температуре 2 – 8°С до срока, указанного на этикетке.

Не замораживать!

Процедура измерения

Процедура работы с контролями полностью совпадает с процедурой определения в пробах и выполняется в соответствии с инструкцией для анализатора cobas c111.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Контроль Цистатина С (Cystatin C Control Set Cobas c systems)

Cystatin C Control Set

Набор контролей цистатина С

Арт. 04975936190

Фасовка 4x1 мл, контроль 1 (низкий)

4x1 мл, контроль 2 (высокий)

Назначение

Набор контролей цистатина С предназначен для проведения процедуры контроля качества количественного определения концентрации цистатина С реагентами фирмы Рош на автоматизированных биохимических анализаторах.

Теоретическое обоснование

Cystatin C Control Set содержит 2 контроля на основе делипидированной человеческой сыворотки, обогащенной человеческим цистатином С, произведенным в E.coli.

Концентрация компонентов контролей подобрана для обеспечения оптимальной калибровки соответствующих методов Roche на биохимических анализаторах.

Состав набора контролей

Реагирующие компоненты:

Делипидированная человеческая сыворотка, обогащенная человеческим цистатином с химическими добавками и определенным материалом биологического происхождения.

Происхождение биологических добавок следующие:

Аналит

Происхождение

Цистатин С

человеческий материал, произведенный в E.coli

Не реагирующие компоненты:

Консерванты

Концентрации компонентов контролей являются лот-специфичными. Точные значения даны во вложенной таблице значений. Значения закодированы в баркоде для анализаторов Roche/Hitachi 917, Roche/Hitachi MODULAR и COBAS INTEGRA.

Для анализатора cobas c 501 значения посылаются на анализатор через cobas link.

Меры предосторожности

Только для IN VITRO диагностики.

Использовать все меры предосторожности, принятые в лабораторной практике.

Контроль приготовлен из крови доноров, каждая из которых индивидуально проверена на наличие HbsAg, антител к HIV и HCV.

Однако, ни один из существующих методов не дает 100% гарантии, нельзя исключить возможность заражения контрольным материалом. Поэтому при работе с ним нужно соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов.

Подготовка к работе

Контроли жидкие, готовы к использованию. Перед использованием аккуратно перемешайте. Избегайте образования пены.

Хранение и стабильность

Не вскрытые флаконы хранятся при температуре 2 – 8 гр.С до срока, указанного на этикетке.

Вскрытые флаконы : 30 дней при 2 -8 гр.С, при условии отсутствия микробных загрязнений. Калибратор должен измеряться без задержки для избегания ошибок, возникающих в результате испарения.

Не замораживать!

Храните контроли с плотно закрытой крышкой, когда он не используется.

Процедура измерения

Процедура работы с контролями полностью совпадает с процедурой определения в пробах и выполняется в соответствии с инструкцией для данного анализатора.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

С-реактивный белок (Tina-quant C-Reactive Protein Gen.3 cobas Integra)

С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК, латексный

Информация о реагентах

Набор (кассета) CRPL3	300 тестов	Кат.№ 04956737190
Калибратор CFAS Proteins	5 x 1.0 мл	Кат.№ 1355279
Контроль Precipnorm Protein	3 x 1.0 мл	Кат.№ 0557897
Precipath Protein	3 x 1.0 мл	Кат.№ 1333127
или CRP T Control N	5 x 0.5 мл	Кат.№ 20766321
Растворитель NaCl 9%	6 x 22 мл	Кат.№ 20756350

Количество 300 тестов в наборе (кассете)

тестов

Назначение набора Набор (кассета) Кобас Интегра С-реактивный белок (латексный) «CRPL2» содержит систему реагентов для диагностики *in vitro*, предназначенную для использования на Кобас Интегра для количественного иммунологического определения человеческого С-реактивного белка в сыворотке и плазме (тест CRPL2, 0-293 для Интегра-400; 0-393 для Интегра400/800).

Клиническое значение и физиологическая функция^{1,2}

Большинство процессов, повреждающих ткани, таких как инфекции, воспалительные заболевания и злокачественные новообразования сопровождаются выраженным острофазным ответом с повышением уровня С-реактивного белка и других острофазных реактантов (α 1-антитрипсин, α 1-кислый гликопротеин, гаптоглобин, фракция комплемента С3с, С4). Повышение уровня С-реактивного белка является неспецифической реакцией и происходит еще до развития клинических проявлений заболеваний, включая подъем температуры. В норме у здоровых людей концентрация С-реактивного белка не превышает 5 мг/л. После начала острофазного ответа концентрация СРБ быстро увеличивается. Изменения концентрации СРБ обнаруживаются через 6-8 часов и достигают пиковых значений через 24-48 часов. Уровень СРБ соответствует тяжести и остроте состояния пациента, а также прогнозу заболевания. Концентрации СРБ, в 1000 раз превышающие нормальные значения, наблюдаются при инфаркте миокарда, травмах, хирургических операциях, злокачественных новообразованиях. Физиологической функцией СРБ является активация системы комплемента по классическому пути. Период полураспада белка составляет 12-24 часа, благодаря чему СРБ является идеальным маркером для клинического мониторинга антибактериальной терапии, противовоспалительной терапии, развития и течения интеркуррентных заболеваний. Так, динамическое количественное определение СРБ в послеоперационном периоде может свидетельствовать либо о нормальном процессе выздоровления (снижение уровня СРБ), либо выявить наличие осложнений (сохранение высокого уровня).

Вследствие быстрого ответа на любые изменения в активности заболевания, определение СРБ может полностью заменить широко используемый, но менее лабильный тест СОЭ. Кроме того, уровень СРБ в отличие от СОЭ не зависит от пола, времени суток, количества и морфологии эритроцитов, белкового состава плазмы.

Принцип метода^{3,4,5}

Усиленное латексными микрочастицами иммунотурбидиметрическое определение. Человеческий С-реактивный белок образует преципитат с латексными частицами, с закрепленными на них моноклональными антителами к СРБ человека. Преципитат определяется турбидиметрически при 552 нм.

Реактивы 2 (жидкие, готовые к употреблению).

R1 TRIS-буфер с бычьим сывороточным альбумином и иммуноглобулинами мыши, стабилизированным 0.09% раствором азиды натрия во флаконах А и В.

R2=SR Латексные частицы, покрытые мышиными антителами к СРБ в глициновом буфере, стабилизированном 0.09% раствором азиды натрия во флаконе С.

Информацию об объеме реагентов в кассете смотрите на этикетке.

Меры безопасности

Предназначается для диагностики *in vitro*.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Обращение с реактивами

Реагенты готовы к использованию.

Хранение и стабильность

Невскрытый при 2 - 8°C:

См. срок годности на кассете

После вскрытия при 10-15°C:

12 недель

Сбор и подготовка образцов

Сыворотка или плазма (для получения плазмы использовать только K_2 , K_3 -ЭДТА; литиевый, натриевый, NH_4 -гепарин, флуорид и цитрат)).

Сыворотка должна быть немедленно отделена от сгустка и быстро проанализирована.

Хранение и стабильность образцов

3 дня при 20-25°C

8 дня при 4 - 8 °C

более 3 лет замороженными при -20 °C. Избегайте повторного замораживания и оттаивания.

Образцы, содержащие преципитаты (мутные) следует предварительно центрифугировать.

Необходимые (но не предоставляемые материалы)

NaCl 9.0% (в 10 раз более концентрированный изотонический солевой раствор) для последующего автоматического разбавления.

Используют готовый 9.0% раствор NaCl Кат.№ 20756350 или готовят 9.0% раствор, используя коммерческий хлорид натрия в таблетках или в виде концентрированного солевого раствора.

9.0% раствор NaCl помещают в пробирки для растворителя, находящиеся в предварительно определенных местах в штативе (Rack) CAL/QC.

Процедура проведения анализа

Для оптимального проведения анализа важно следовать указаниям по работе с используемым анализатором и проверить, имеется ли в системе достаточный запас аналитических материалов и других расходных материалов.

Апликация для сыворотки и плазмы

	Интегра 400	Интегра 700/800
Метод измерения	Абсорбция	Абсорбция
Метод расчета абсорбции	Кинетический	Кинетический
Тип реакции	R1-S-SR	R1-S-SR
Направление реакции	С увеличением	С увеличением
Длина волны	552 нм	552 нм
Точки расчета первая/последняя	35/48	46/69
Диапазон измерения	0-200 мг/л (0-20 мг/100мл)	0-200 мг/л (0-20 мг/100мл)
с постразведением	0-2000 мг/л (0-200 мг/100мл)	0-2000 мг/л (0-200 мг/100мл)
Эффект прозоны	> 3100 г/л (> 310 мг/100мл)	> 3100 г/л (> 310 мг/100мл)
Проверка избытка антигена	нет	нет
Фактор предразведения	нет	нет
Фактор постразведения	Рекомендован 10	Рекомендован 10
Фактор постконцентрации	нет	Нет
Единица измерения	мг/л	мг/л

Параметры пипетирования (Интегра 400/700/800)

R1	82 мкл	Дилуэнт (H ₂ O)
Образец	2.5 мкл	48 мкл
SR	28 мкл	30 мкл
Общий объем	204.5 мкл	14 мкл

Калибровка

Калибратор	CFAS Proteins
Коэффициент разведения калибратора	1:0.5, 1:1, 1:1.5 1:2, 1:10 и 0 мг/л (Интегра-400) 1:0.5, 1:0.74, 1:1, 1:2.86, 1:10 и 0 мг/л (Интегра-700/800) Разведение автоматически выполняется анализатором. В качестве нулевого калибратора используется вода, поступающая в систему. Линейная интерполяция. Рекомендуется 2 измерения в каждой точке Каждый лот
Метод калибровки	
Количество повторов в точках измерения	
Интервал калибровки	

Введите обозначенные во вкладыше, полученном вместе с упаковкой калибратора CFAS Proteins, концентрации 6 калибраторов для С-реактивного белка, индивидуальные для каждого лота. Метод был стандартизован по отношению к Референсным материалам IFCC/BCR/CAP (CRM-470) для 14 сывороточных белков.⁷

Контроль качества

Контрольные материалы	1 уровень (норма) 2 уровень (патология)	Precinorm Protein или CRP T Control N Precipath Protein
Интервал		Каждые 24 часа
Последовательность контроля		Определяется оператором
Контроль после новой калибровки		Рекомендуется

Расчет результатов

Кобас Интегра автоматически вычисляет результаты концентрации С-реактивного белка в каждом образце.

Процедура проведения анализа

Для оптимального проведения анализа важно следовать указаниям по работе с используемым анализатором и проверить, имеется ли в системе достаточный запас аналитических материалов и других расходных материалов.

Ограничения – интерференция

Воспроизводимость в пределах 10% от начальной величины

Гемолиз	нет значительного влияния.
Желтуха	нет значительного влияния.
Липемия	нет значительного влияния до уровня триглицеридов 7.5г/л. Мутные образцы с абсорбцией, выше 0.1, распознаются проверкой «High Activity», выполняемой анализатором. Корректные результаты могут быть получены после разведения образца.
Ревматоидный фактор	нет значительного влияния.
Другие	Очень редко, моноклональные гаммапатии могут привести к ложным концентрациям СРБ вследствие образования мутности или прямого взаимодействия моноклональных антител образца с тест-системой.

Ожидаемые результаты	Взрослые ⁸ < 5мг/л (<0.5 мг/100мл)
----------------------	---

Новорожденные⁹ 0 день < 0.6 мг/л (<0.06 мг/100мл)
 1 день < 3.2 мг/л (<0.32 мг/100мл)
 1 неделя < 1.6 мг/л (<0.16 мг/100мл)

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых (нормативных) результатов на популяцию собственных пациентов и, в случае необходимости, определить свои собственные нормативные диапазоны.

Результаты, полученные с использованием данного или любого другого диагностического набора, следует использовать и интерпретировать только в контексте общей клинической картины и результатов других диагностических исследований

Аналитические характеристики

Точность Воспроизводимость была определена с использованием образцов человеческой сыворотки и контролей (n-число исследованных образцов). Были получены следующие данные

	Уровень 1	Уровень 2
Среднее	6.2 мг/л (0.62 мг/100мл)	142 мг/л (14.2 мг/100мл)
CV внутри серии (n=20)	1.8 %	1.5 %
CV день за днем (n=20)	2.9 %	2.7 %

Аналитическая чувствительность (нижний предел определения)
 0.71 мг/л (0.071 мг/100мл)

Предел обнаружения представляет собой самую малую концентрацию С-реактивного белка, которая может быть обнаружена как отличная от нуля. Она вычислена как концентрация, лежащая на 3 стандартных отклонения выше нулевого образца (сыворотка с нулевой концентрацией С-реактивного белка + 3 SD, воспроизводимость в пределах серии, n = 30).

Характерное представление данных

Метод сравнения Уровень С-реактивного белка для образцов человеческой сыворотки, полученный на Кобас Интегра-400 с использованием данного набора (кассеты) "С-реактивный белок, латексный" сравнили со значениями, полученными с использованием реагентов для определения С-реактивного белка на автоматизированной системе Кобас Интегра 700 и альтернативной коммерческой системе. Измерения проводились в двух параллельных пробах. (n – численность исследованных образцов)

	Кобас Интегра 700	Альтернативная система
n	140	140
Коэффициент корреляции	r = 0,999	r = 0,998
Линейная регрессия	y = 1.02x - 0.39 мг/л	y = 0.98x + 1.07 мг/л
Passing/Bablok	y = 1.02x - 0.01 мг/л	y = 0.99x + 0.8 мг/л

Концентрации образцов находились приблизительно между 0.56 – 357 мг/л (0.056 – 35.7 мг/100мл)

Библиография

1. Pepys MB, Baltz MC. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. Adv Immunol. 1983;34:141-212.
2. Bowman BH. In: Hepatic Plasma Proteins. San Diego: Academic Press; 1993:47-95.

3. Senju O, Takagi Y, Gomi K, Ishii N, Mochizuki S, Ishii N et al. The quantitative determination of CRP by latex agglutination photometric assay. *Jap J Clin Lab Automation*. 1983;8:161-165.
4. Price CP, Trull AK, Berry D, Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. *J. Immunol Methods*. 1987;99:205-211.
5. Eda S, Kaufmann J, Roos W, Pohl S. Development of a New Microparticle-Enhanced Turbidimetric Assay for C-reactive Protein with Superior Features in Analytical Sensitivity and Dynamic Range. *J Clin Lab Anal*. 1998;12:137-144.
6. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes; Pre-analytical Variables. Brochure in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt GIT Verlag, 1996.
7. Johnson AM. A new international reference preparation for proteins in human serum. *Arch Pathol Lab Med*. 1993;117:29-31.
8. Schumann G, Dati F. Vorläufige Referenzbereiche für 14 Proteine im Serum (für Erwachsene) nach Standardisierung immunochemischer Methoden unter Bezug auf das internationale Referenzmaterial CRM 470. *Lab Med*. 1995;19: 401-403.
9. Kindmark CO. The concentration of C-reactive protein in sera from healthy individuals. *Scand J Clin Lab Invest*. 1972;29: 407-411.

Roche Diagnostics

Редакция: апрель 2002, версия 1.2

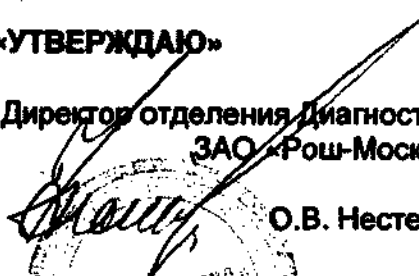
crp.5rus

CRP1.3.doc

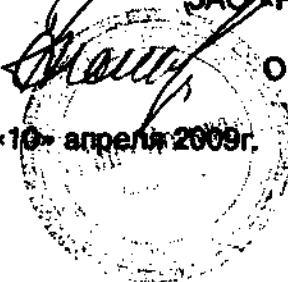


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рос-Москва»


О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

Цистатин С (Tina-quant Cystatin C (CYSC) cobas c systems)

Цистатин С (CYSC)

Roche/Hitachi cobas c systems

cobas c 501 cobas c 311

Информация о реагентах

Цистатин С	225 тестов	Номер по каталогу 04975723190
C.f.a.s. Cystatin C	4x1 мл	Номер по каталогу 04975901190
Cystatin C Set	2x4x1 мл	Номер по каталогу 04975936190
NaCl Diluent 9%	50 мл	Номер по каталогу 04489357190

Предписание для использования

Набор реагентов для количественного определения *in vitro* концентрации цистатина С в сыворотке и плазме на анализаторах Roche/Hitachi cobas c.

Теоретическое обоснование

Почечная недостаточность является всемирной проблемой, которая заключается в значительном риске кардиоваскулярных заболеваний и смерти. В данном руководстве хроническую почечную недостаточность определяем как повреждение почек или уровень клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин на 1,73 м² в течении 3х и более месяцев, безотносительно к причине. Уровень клубочковой фильтрации наиболее часто используемый критерий в оценке функций почек.

Креатинин в сыворотке общий маркер оценки уровня клубочковой фильтрации. Однако, он далек от совершенства, так как значительно изменяется от таких факторов, как мышечная масса, диета, пол, возраст и канальцевой секреции.

Измерения клиренса креатинина в сыворотке и уровня креатинина в моче испытывают такие же проблемы.

Цистатин С продуцируется ядродержащими клетками на постоянном уровне и уровень выработки у человека постоянен в течении всей жизни. Полностью выводится из кровообращения с помощью клубочковой фильтрации. Поэтому концентрация цистатина С в сыворотке не зависит от мышечной массы и пола в возрасте от 1 до 50 лет. Вследствие этого цистатин С в сыворотке и плазмы представляется более чувствительным маркером уровня клубочковой фильтрации, и в некоторых исследованиях цистатин С предлагается в качестве более совершенного маркера, чем креатинин в сыворотке, для оценки уровня клубочковой фильтрации. Кроме того в последнее время цистатин С обсуждается в литературе как прогностический маркер для острой сердечной недостаточности.

Как в случае с креатинином для цистатина С было опубликовано несколько уравнений прогноза для расчета уровня клубочковой фильтрации у взрослых и детей. Отметим, что эти формулы были установлены с различными методами анализа цистатина С (усиленный частицами нефелометрический иммунохимический анализ PENIA или усиленный частицами турбидиметрический иммунохимический анализ PENIA) и возможно обнаружение неточность в результатах уровня клубочковой фильтрации, если используется формула не соответствующая методике измерения. Для расчета уровня клубочковой фильтрации (GFR) для значения цистатина С, измеренного тестами Roche, рекомендуется следующее уравнение прогноза, которое использует только концентрацию в единицах измерения мг/л и допубертантного фактора:

$$GFR(мл/мин/1,73 м^2) = \frac{84,69}{CystatinC(mg/L)^{1,660}} \times 1,384^*$$

* для детей <14 лет

Принцип метода

Иммунотурбидиметрический метод (латексное усиление).

Цистатин С, содержащийся в человеческом образце сыворотки/плазмы, агглютинирует с латексными частицами, покрытых антителами к цистатину С. Образовавшиеся комплексы определяются турбидиметрически на длине волны 546 нм.

Реагенты

Готовы к использованию.

Перед установкой на борт анализатора встряхните cobas c rack

R1	Раствор полиметров в соляном растворе, консерванты, стабилизаторы
R2	Латексные частицы, покрытые антителами к цистатину С (кролик), в глициновом буфере, консерванты, стабилизаторы

Меры предосторожности и предупреждения

Только для *in vitro* диагностики

Соблюдайте обычные меры предосторожности необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.

Инструкция по безопасности доступна для профессионального использования по запросу.

Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с местными правилами ликвидации отходов.

Хранение и стабильность реагентов

Хранение при 2-8°C

Смотрите срок годности на упаковке

В приборе при использовании холодильника анализатора 8 недель (12 недель для NaCl Diluent 9%)

Сбор и подготовка образцов

Для сбора и подготовки используйте только подходящие пробирки. После тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материала для исследования.

Сыворотка

Плазма.

Li-гепариновая

Используя образцы проб в первичных пробирках, следуйте инструкциям изготовителя.

Центрифугируйте образцы до выполнения исследования.

Стабильность

Сыворотка/плазма

7 дней при 2 - 8°C

6 месяцев при (-15)-(-25)°C

Протокол измерения

Для оптимального проведения исследования следуйте указаниям данного документа. Ознакомьтесь с инструкцией оператора для анализатора, указанного в инструкции.

Использование протокола измерения, не подтвержденного Roche, не гарантирует корректного результата и должно определяться потребителем.

Протокол измерения для сыворотки и плазмы cobas c 311 system

Режим измерения

2 Point end

Время реакции/точки измерения:

10/8 -57

Направление реакции

Уменьшение

Длины волн A/B

700/546 нм

Единицы измерения

мг/л

Параметры дозирования

Сыворотка/плазма

Дилуэнт (H₂O)

R1

154 мкл

-

Образец

15 мкл

75 мкл

R2

34 мкл

20 мкл

Протокол измерения для сыворотки и плазмы cobas c 501 system

Режим измерения

2 Point end

Время реакции/точки измерения:

10/13-70

Направление реакции

Уменьшение

Длины волн A/B

700/546 нм

Единицы измерения

Мг/л

Параметры дозирования

Сыворотка/плазма

Дилуэнт (H₂O)

R1

154 мкл

-

Образец

15 мкл

75 мкл

R2

34 мкл

20 мкл

Калибровка

Калибратор

S1-6: C.f.s.a Cystatin C

Умножьте лот-специфическое значение C.f.a.s. Cystatin C на фактор приведенный ниже и определенный для стандартных концентраций 6 точечной калибровочной кривой:

S1: 0.055 S4: 0.428

S2: 0.107 S5: 0.608

S3: 0,250 S6: 1

Spline

Режим калибровки

Интервал калибровки

Каждый лот, каждые 90 дней, по результатам контроля качества.

Стандартизация: данный метод был стандартизирован против локального референсного материала, приготовленного из рекомбинантного человеческого цистатина C. Концентрация цистатина C в референсном материале устанавливается определением сухой массы, как описано в стандарте Bilstrup-Jensen.

Контроль качества

Сыворотка/плазма

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Пересчет

Анализаторы Roche/Hitachi cobas с автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце.

Факторы, влияющие на результаты

Критерий: восстановление в пределах $\pm 10\%$ от начального значения.

Иктеричность

Не оказывает значимого влияния до значения 60 индекса I для конъюгированного и неконъюгированного билирубина (приблизительное значение конъюгированного и неконъюгированного билирубина – 1026 мкмоль/л (60 мг/дл)).

Гемолиз

Не оказывает значимого влияния до значения 700 индекса H (приблизительная концентрация гемоглобина 435 мкмоль/л (700 мг/дл)).

Липемия

Не оказывает значимого влияния до значения 1000 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.

Ревматоидный фактор

Не оказывает значимого влияния до значения 1200 Е/мл

Лекарственные препараты

Не оказывают значимого влияния

В очень редких случаях гаммопатия, в частности тип IgM (макроглобулинемия Валдерштрёма), может привести к неправильным результатам.

Эффект кривой высокой дозы наблюдается при концентрациях цистатина C выше 20 мг/л.

Измеряемый интервал

Сыворотка/плазма

0.4 – 8.0 мг/л

С помощью повторного измерения с разведением возможно измерить более высокие концентрации в исследуемом образце.

Разведение образца: 1:1.5

Результат измерения разведенного образца автоматически умножается на фактор, равный 1.5.

Нижний предел обнаружения

0.3 мг/л (0,1 мг/дл)

Предел обнаружения представляет самый низкий измеренный уровень аналита, который отличается от нуля. Вычисляется как величина, лежащая в трёх стандартных отклонениях выше самого низкоконцентрированного стандарта.

Ожидаемые значения

Взрослые (20 – 70 лет)

0.47 – 1.09 мг/л

Каждая лаборатория должна исследовать приемлемость ожидаемых значений для популяции своего региона, и если необходимо определить свои значения. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут отличаться. В диагностических целях значения, полученные при тестировании, всегда должны оцениваться в учётом истории болезни пациента, клиническими обследованиями и другими анализами.

Точность

Воспроизводимость определялась, используя пробы людей и контроли по внутреннему протоколу (внутри серии $n = 21$; общее $n = 30$). Были получены следующие результаты:

<i>Внутри серии</i>	<i>Среднее мг/л (мг/дл)</i>	<i>SD мг/л (мг/дл)</i>	<i>CV %</i>
Cystatin C Control Set Control Low	1.05	0.01	0.75
Cystatin C Control Set Control High	4.45	0.03	0.75
Сыворотка 1	0.52	0.01	2.66
Сыворотка 2	6.30	0.04	0.64
<i>Всего</i>	<i>Среднее мг/л (мг/дл)</i>	<i>SD мг/л (мг/дл)</i>	<i>CV %</i>
Cystatin C Control Set Control Low	1.00	0.03	2.92
Cystatin C Control Set Control High	4.36	0.09	1.94
Сыворотка 1	0.65	0.02	3.77
Сыворотка 2	7.16	0.19	2.62

Сравнение методов

Значения цистатина С в сыворотке и плазме людей, полученные на анализаторе Roche/Hitachi cobas c 501(y), сравнивались с подобной методикой, используемой на анализаторе Roche/Hitachi 917 (x).

Сыворотка/плазма (n=64)

Passing/Bablok

$$y = 0,99x + 0.02 \text{ мг/л}$$

$$r = 0,980$$

Концентрация проб: 0.40 – 7.15 мг/л

Линейная регрессия

$$y = 0,99x + 0.01 \text{ мг/л}$$

$$r = 0,999$$

Ссылки

1. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003;139:137-47.
2. Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004;141:929-37.
3. Wasen E, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, Kivelä SL, Irjala K. Estimation of glomerular filtration rate in the elderly: a comparison of creatinine based formulae with serum Cystatin C. *J Intern Med* 2004;256:70-8.
4. Levey AS, Coresh JK. DOQI clinical practice guidelines on chronic kidney disease. Guideline 4. Estimation of GFR. *Am J Kidney Dis* 2002;39 (suppl1):76-92.
5. Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nilsson-Ehle P, Lindström V. Serum Cystatin C, determined by a rapid, automated particle enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1994;40:1921-6.
6. Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of Cystatin C, factor D and OI2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand* 1985;218:499-503.
7. Jung K, Jung M. Cystatin C: a promising marker of glomerular filtration rate to replace creatinine. *Nephron* 1995;70:370-1.
8. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb A. Serum Cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 1995;47:312-8.
9. Mussap M, Dalla Vestra M, Fioretto P, Saller A, Varagnolo M, Nosadini R. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2002;61:1453-61.
10. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum Cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta analysis. *Am J Kidney Dis* 2002;40:221-6.
11. Risch L, Drexel H, Huber AR. Differences in glomerular filtration estimates by two cystatin C-based equations. *Clinical Chemistry* 2005; 51:2211-2.
12. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G, Christensson A. Simple Cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clinical Chemistry* 2005; 51:1420-1431.
13. Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between Cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2024-31.
14. Lassus J, Harjola VP, Sund R, Siirilä-Waris K, Melin J, Peuhkurinen K, Pulkki K, Nieminen MS. Prognostic value of Cystatin C in acute heart failure in relation to other markers of renal function and NT-proBNP. *European Heart Journal* February 8, 2007; doi:10.1093/eurheart/ehl507.
15. Data on file at Roche Professional Diagnostics.
16. Bilrup-Jensen S. Protein standardization II: Dry mass determination procedure for the determination of the dry mass of a pure protein precipitation. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:1090-7.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474.
18. Breuer J, Report on the Symposium; Drug Effects in Clinical Chemistry. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
19. Sonntag O, Scholer A. Drug interferences in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.
20. Passing H, Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

2009 Roche Diagnostics

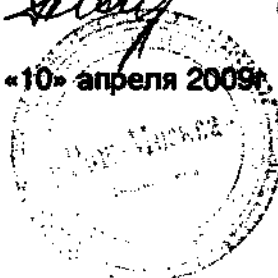


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:
Калибратор Цистатина С (C.f.a.s. Cystatin C cobas c systems)

C.f.a.s. Cystatin C

Калибратор цистатина С

Арт. 04975901 190

Фасовка 4x1 мл

Назначение

Калибратор цистатина С предназначен для калибровки метода для количественного определения концентрации цистатина С реагентами фирмы Рош на автоматизированных биохимических анализаторах.

Теоретическое обоснование

C.f.a.s. Cystatin C представляют собой жидкие, готовые к использованию калибраторы на основе делипидированной человеческой сыворотки, обогащенной человеческим цистатином С, произведенным в E.coli. Концентрация компонентов калибратора подобрана для обеспечения оптимальной калибровки соответствующих методов Roche на биохимических анализаторах.

Состав калибратора

Реагирующие компоненты:

Делипидированная человеческая сыворотка, обогащенная человеческим цистатином с химическими добавками и определенным материалом биологического происхождения.

Происхождение биологических добавок следующие:

Аналит	Происхождение
Цистатин С	человеческий материал, произведенный в E.coli

Не реагирующие компоненты:

Консерванты

Концентрации компонентов калибратора являются лот-специфичными. Точные значения даны во вложенной таблице значений.

Значения закодированы в баркоде для анализаторов Roche/Hitachi 917, Roche/Hitachi MODULAR и COBAS INTEGRA.

Для анализатора cobas с 501 значения посылаются на анализатор через cobas link.

Меры предосторожности

Только для IN VITRO диагностики.

Использовать все меры предосторожности, принятые в лабораторной практике.

Стандарт приготовлен из крови доноров, каждая из которых индивидуально проверена на наличие HbsAg, антител к HIV и HCV.

Однако, ни один из существующих методов не дает 100% гарантии, нельзя исключить возможность заражения контрольным материалом. Поэтому при

работе с ним нужно соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов.

Подготовка к работе

Калибраторы жидкие, готовы к использованию. Перед использованием аккуратно перемешайте. Избегайте образования пены.

Хранение и стабильность

Не вскрытые флаконы хранятся при температуре 2 – 8 гр.С до срока, указанного на этикетке.

Вскрытые флаконы : 30 дней при 2 -8 гр.С, при условии отсутствия микробных загрязнений. Калибратор должен измеряться без задержки для избегания ошибок, возникающих в результате испарения.

Не замораживать!

Храните калибратор с плотно закрытой крышкой, когда он не используется.

Процедура измерения

Процедура работы с калибраторами полностью совпадает с процедурой определения в пробах и выполняется в соответствии с инструкцией для данного анализатора.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор отделения Диагностики
ЗАО «Рош-Москва»

О.В. Нестеров

«10» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Общий белок в моче/спинномозговой жидкости (Total Protein in Urine/Cerebrospinal Fluid (U/CSF Protein) Roche/Hitachi)

Общий белок в моче/спинномозговой жидкости

Информация о реагентах

• Обозначены Roche/Hitachi анализаторы, на которых данный набор может использоваться

Кат.№	Флакон	Объем	902	912	917	Modular	
						P	D
11877801190	1	6x20 мл	•	•	•	•	
	2	6x9 мл					

Калибратор C.f.a.s. PUC

5 x 1.0 мл

Кат.№ 03121305122

Контроль Precinoform PUC

4x3 мл

Кат.№ 03121313122

Precipath PUC

4x3 мл

Кат.№ 03121291122

Дилуэнт NaCl 9%

**Назначение
набора**

Предназначен для количественного определения белка в моче и спинномозговой жидкости человека иммунотурбидиметрическим методом на автоматических биохимических анализаторах Roche/Hitachi.

Клиническое значение и физиологическая функция

Измерение белка в моче используется в диагностике и лечении заболеваний почек и сердца, или расстройства щитовидной железы, которые характеризуются протеинурией или альбуминурией.

Измерения белка в спинномозговой жидкости используется для диагностики заболеваний таких как менингит, опухоли мозга и инфекционные заболевания нервной системы.

Моча формируется фильтрацией плазмы через клубочковую капиллярную стенку. Белки с относительной молекулярной массой более 4000 полностью задерживаются, а белки с меньшей относительной молекулярной массой просто попадают в клубочковый фильтрат. Большая часть белка попадает в спинномозговую жидкость путем диффузии из плазмы через гематоэнцефалический барьер. Увеличение уровня белка является результатом увеличения проницаемости гематоэнцефалического барьера или связано с увеличением локального синтеза иммуноглобулинов.

Турбидиметрические методы используют осаждение белка с помощью трихлоруксусной кислоты (TCA) или сульфосалициловой кислоты (SSA) в образце в зависимости от их размера; итоговая мутность может быть нестабильна и могут выпадать хлопья. Реагенты в окрашивающих методах, таких как Coomassie голубой и пироголовый красный, реагируют с белками в зависимости от их аминокислотного состава, и могут окрашивать стекло и пластик. В зависимости от реакционного механизма все методы, турбидиметрические и нефелометрические, показывают различную чувствительность к различным белкам, особенно к фрагментам белков, таких как белки Bence Jones и небольшим белкам, например α_1 -микроглобулин.

Roche Diagnostics метод определения белка в моче и спинномозговой жидкости основан на методе описанном Iwata и Nishikaze, а далее модифицированном Luxton, Patel, Keir и Thompson. В этом методе, бензоэтиловый хлорид реагирует с белком в основной среде, в результате чего образуется мутность, которая более стабильна и равномерно распределена. Также на этот метод не оказывают влияния ионы магния.

Принцип метода

Турбидиметрический метод

Образец предварительно нагретый в щелочном растворе, содержащем ЭДТА и который разлагает белки и исключает влияние ионов магния. Добавление бензоэтилового хлорида образует мутность, которая определяется на 505 нм.

Реактивы жидкие, готовые к употреблению

R1 Гидроксид натрия: 530 ммоль/л; ЭДТА-Na: 74 ммоль/л

R2 Бензоэтиловый хлорид: 32 ммоль/л

Меры безопасности

Предназначается для диагностики *in vitro*.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Обращение с реактивами

Реагенты готовы к использованию.

Хранение и стабильность

Невыскранный флакон при 2 - 8°C:

См. срок годности на флаконе

После вскрытия при 2 - 8°C:

21 день

Сбор и подготовка образцов

Моча: используется случайная или суточная моча. Не используйте консерванты.
 Спинномозговая жидкость: Не требует специальных добавок. Содержание крови в спинномозговой жидкости делает неверными значения белка.
 Центрифугируйте образцы, содержащие включения перед проведением теста. Не опцентрифугированные образцы могут давать завышенные результаты.

Стабильность

Моча:
 24 часа при 15-25°C
 7 дней при 2-8°C
 4 недели при (-15)-(-25)°C
 Спинномозговая жидкость:
 24 часа при 15-25°C
 6 дней при 2-8°C
 Более года при (-15)-(-25)°C

Процедура проведения анализа

Для оптимального проведения анализа важно следовать указаниям по работе с используемым анализатором и проверить, имеется ли в системе достаточный запас аналитических материалов и других расходных материалов.

**Калибровка
Калибратор**

Roche/Hitachi 902

S1: 0,9% NaCl

S2-5: C.f.a.s. PUC

Для аппликации вышеупомянутого анализатора, C.f.a.s.PUC калибратор требуется вручную развести:

Уровень	Предразведение Калибратор+ NaCl	Мкл C.f.a.s. Proteins Urine/CSF	Мкл 0,9% NaCl	Фактор пересчета
S2	1+39	50	1950	0,025
S3	1+19	50	950	0,050
S4	1+7	50	350	0,125
S5	1+3	100	300	0,250
S6	Не разводится	200	0	1,00

Умножьте лот-специфическое значение C.f.a.s. PUC на фактор приведенный выше для определения стандартной концентрации 6 точечной калибровочной кривой.

Roche/Hitachi 904/911/912/917/Modular P

S1: 0,9% NaCl

S2-5: C.f.a.s. PUC

Умножьте лот-специфическое значение C.f.a.s. PUC на фактор приведенный ниже для определения стандартной концентрации 6 точечной калибровочной кривой.

S2: 0,025

S5: 0,250

S3: 0,050

S6: 1,0

S4: 0,125

Интервал калибровки

После смены лота реагента, после смены флакона реагента, каждые 7 дней, по запросу процедуры контроля качества.

Метод был стандартизован против первичного стандарта, отнесенного к NIST

Контроль качества

Для контроля качества могут быть использованы как контрольные материалы, указанные в разделе "Информация о реагентах", так и другие пригодные контрольные материалы. Контрольные интервалы должны быть приемлемыми для каждой лаборатории, а полученные величины должны находиться в определенных пределах. Каждая лаборатория должна установить поправочные коэффициенты, если лабораторные величины находятся за пределами интервалов.

Расчет результатов

Анализатор автоматически вычисляет результаты концентрации белка в каждом образце:

Фактор пересчета: мг/л x 0,1 = мг/дл

Мг/л x 0,001 = г/л

Для расчета выделенного белка в суточной моче:

Мг/л x общий объем (литров за 24 часа) = мг/день

Ограничения – интерференцияВоспроизводимость в пределах $\pm 10\%$ от начального значения**Иктеричность**

Не оказывает значимого влияния до значения конъюгированного билирубина 615 мкмоль/л (36 мг/дл).

Гемолиз

Не оказывает значимого влияния

Липемия

Не оказывает значимого влияния до значения 500 индекса L. Имеется низкая корреляция между индексом L (характеризующим мутность) и концентрацией триглицеридов.

Не оказывают значимого влияния

Аскорбиновая кислота, фосфор, цитрат натрия, хлорпромазин, гентамицина сульфат, креатинин, мочевины, кофеин, кальций, оксалат натрия, глюкоза, магний, цефазолин натрия, L-Дора и мочевины

Лекарственные препараты

Терапевтические концентрации добесилата кальция, levodopa и rhenazopyridine оказывают влияние на метод

Другие

Очень редкие случаи гаммапатий, в частности, макроглобулинемия Вальденстрема (типа IgM) могут вызвать получение недостоверных результатов

Измеряемый интервал

40 – 2000 мг/л (4 – 200 мг/дл; 0,04 – 2 г/л)

Roche/Hitachi 904/911/912:

Если полученная концентрация белка выходит за эти пределы, разведите образец 1+1 0,9% NaCl. Результат умножьте на фактор 2.

Roche/Hitachi 917/Modular P:

Если полученная концентрация белка выходит за эти пределы, разведите образец 2+1 0,9% NaCl. Результат умножьте на фактор 3.

Ожидаемые результаты**Моча**

Суточная: <140 мг/сутки

Случайная: <150 мг/л

Спинальная жидкость

По Титу: 150 – 450 мг/л

По Томасу: 200 – 400 мг/л

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых (нормативных) результатов на популяцию собственных пациентов и, в случае необходимости, определить свои собственные нормативные диапазоны.

Результаты, полученные с использованием данного или любого другого диагностического набора, следует использовать и интерпретировать только в контексте общей клинической картины и результатов других диагностических исследований

Аналитические характеристики**Точность**

Воспроизводимость была определена с использованием образцов человеческой мочи и контролей (n-число исследованных образцов). Были получены следующие данные:

Моча Образец	Внутри серии (n=21)			Между сериями (n=10)		
	Среднее, мг/л	SD, мг/л	CV, %	Среднее, мг/л	SD, мг/л	CV, %
Control Level 1	217	4,2	1,9	345	6,0	1,7
Control Level 2	673	6,6	1,0	1144	13,0	1,1
Моча 1	100	5,2	5,2	120	4,6	3,8
Спинальная жидкость Образец	Внутри серии (n=21)			Между сериями (n=10)		
	Среднее, мг/л	SD, мг/л	CV, %	Среднее, мг/л	SD, мг/л	CV, %
Control Level 1	231	2,0	0,9	293	3,0	1,0
Control Level 2	536	3,6	0,7	902	5,6	0,6

Аналитическая чувствительность (нижний предел определения): 40 мг/л

Предел обнаружения представляет собой самую малую концентрацию общего белка, которая может быть обнаружена как отличная от нуля. Она вычислена как концентрация, лежащая на 3 стандартных отклонения выше низкого стандарта (низкий стандарт белка + 3 SD, воспроизводимость в пределах серии, n = 21).

Метод сравнения

Сравнение между Roche U/CSF Protein аппликацией ACN 078 (y) и аппликацией CAN 078 (x) дало следующую корреляцию в человеческой сыворотке (мг/л)

Моча (n=86)

Passing/Bablok

$$y=0,894x - 3,87$$

$$n=0,991$$

Концентрация проб: 41 – 1783 мг/л

Спинномозговая жидкость (n=86)

Passing/Bablok

$$y=0,928x + 19,1$$

$$n=0,972$$

Концентрация проб: 40 – 935 мг/л

Линейная регрессия

$$Y=0,891x - 0,797$$

$$r=1,000$$

Линейная регрессия

$$Y=0,929x + 18,1$$

$$r=0,999$$

Библиография

1. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1987:336.
2. Boege F. Bence Jones-Proteine. J Lab Med 1999;23:477-482.
3. Iwata J, Nishikaze O. New micro-turbidimetric method for determination of protein in cerebrospinal fluid and urine. Clin Chem 1979;25/7:1317-1319.
4. Luxton RW, Patel P, Keir G, Thompson EJ. A micro-method for measuring total protein in cerebrospinal fluid by using benzethonium chloride in microtiter plate wells. Clin Chem 1989;35/8:1731-1734.
5. Hohnadel DC, Koller A. Urine protein total. In: Pesce AJ, Kaplan LA (editors). Methods in Clinical Chemistry. St. Louis: The C.W. Mosby Co.; 1987:35-45.
6. Koumantakis G, Wyndham L. Fluorescein Interference with Urinary Creatinine and Protein Measurements. Clin Chem 1991;37/10:1799.
7. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/Lab/99.1 Rev.2. Jan. 2002.
8. Standard Reference Materials from NERL, traceable to NIST (National Institute of Standards and Technology).
9. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
10. Junge W, Wilke B, Halabi A, Jarausch J, Klein G. Reference Intervals for Total Protein in Collected and Random Urine using the Benzethonium Chloride Method. Clin Chem 2006;52:A157 [Abstract].
11. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1995:520.
12. Thomas L. Labor und Diagnose. 6th ed.: TH Books-Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main 2005:930-934.
13. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Параметры настройки

Для анализаторов Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 и Modular введение параметров аппликации осуществляется через аппликационную дискету, баркоды.

Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>		
1	Test Name	UCSF2	
2	Assay Code (Mthd)	2 point end	
3	Assay Code (2. Test)	0	
4	Reaction Time	10	
5	Assay Point 1	17	
6	Assay Point 2	35	
7	Assay Point 3	0	
8	Assay Point 4	0	

9	Wavelength (SUB)	700
10	Wavelength (MAIN)	505
11	Sample Volume	15
12	R1 Volume	250
13	R1 Pos.	
14	R1 Bottle Size	Small
15	R2 Volume	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	100
19	R3 Pos.	0
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Logit-log (4)
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Cone. 1	0
24	Calib. Pos. 1	
25	Calib. Conc. 2	
26	Calib. Pos. 2	
27	Calib. Conc. 3	
28	Calib. Pos. 3	
29	Calib. Conc. 4	
30	Calib. Pos. 4	
31	Calib. Conc. 5	
32	Calib. Pos. 5	
33	Calib. Conc. 6	
34	Calib. Pos. 6	
35	S1 ABS	0
36	K Factor	10000
37	K2 Factor	10000
38	K3 Factor	10000
39	K4 Factor	10000
40	K5 Factor	10000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	80
45	Duplicate Limit	200

46	Sens. Limit	6500	
47	S1 Abs. Limit (L)	-100	
48	S1 Abs. Limit (H)	100	
49	Abs. Limit	0	
50	Abs. Limit (D/I)	Increase	
51	Prozone Limit	0	
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Lower	
53	Prozone (Endpoint)	35	
54	Expect. Value (L)		
55	Expect. Value (H)		
56	Instr. Fact. (a)	1.0	
57	Instr. Fact. (b)	0	
58	Key setting		

..... Данные, вводимые оператором.

Roche Diagnostics
Редакция: 2009