Регистрационное удостоверение ФС №2009/05144 от 15.09.2009 г.

RAMP® Миоглобин (RAMP® Myoglobin Assay)

Иммунохроматографический набор для количественного определения миоглобина в цельной крови.

Номер по каталогу: C1103 **Набор рассчитан на 25 определений**

Несоблюдение инструкции к набору RAMP Миоглобин может привести к необоснованным и/или ошибочным результатам. Перед использованием набора внимательно изучите инструкцию по применению.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор для определения миоглобина **RAMP Миоглобин** – диагностическая иммунохроматографическая тест-система для количественного определения *in vitro* уровня миоглобина в цельной (ЭДТА) крови человека с помощью экспресс-фотометра **RAMP Clinical Reader**. Определение концентрации миоглобина необходимо для экстренной диагностики острого инфаркта миокарда.

ВВЕДЕНИЕ

Миоглобин — внутриклеточный гем-содержащий белок, выявленный в клетках всех типов мышечной ткани, включая сердечную. Его молекулярная масса составляет около 17,8 кДа. При повреждении или некрозе тканей сердечной мышцы происходит быстрый выброс миоглобина в кровоток.

Хотя уровень миоглобина в крови повышается уже через 1 час после появления симптомов острого инфаркта миокарда (ОИМ), наиболее целесообразно определять его содержание через 2—12 часов после начала. Уровень миоглобина достигает пика через 6-9 часов после инфаркта и возвращается к нормальным значениям в течение 24—36 часов [1, 2]. Если при нескольких последовательных измерениях концентрация миоглобина не увеличивается, это часто является основанием для исключения диагноза ОИМ. Удвоение концентрации миоглобина в течение 1—2 часов служит веским доказательством ОИМ, даже если этот повышенный уровень миоглобина все еще находится в пределах нормальных значений [3].

Уровень миоглобина в крови может возрастать в результате повреждения мышечной ткани при травме, хирургическом вмешательстве, физических упражнениях и ишемии, а также при дегенеративных заболеваниях мышц. Если эти факторы отсутствуют и данные анамнеза не указывают на возможность повреждения скелетных мышц, повышенный уровень миоглобина свидетельствует о повреждении миокарда.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест **RAMP Миоглобин** основан на методе иммунохроматографии и предназначен для количественного определения миоглобина в цельной крови. Образец крови смешивается с латексными частицами, покрытыми антителами к миоглобину и содержащими флуоресцентную метку, и разводится специальным буферным раствором, после чего его вносят в лунку для образца тест-кассеты. Содержащиеся в образце молекулы миоглобина связываются со специфическими антителами на поверхности латексных частиц. Образец проходит через впитывающий слой, в котором клеточные элементы задерживаются. Разведенная плазма, содержащая взвесь частиц латекса, мигрирует далее вдоль хроматографической мембраны. Когда взвесь достигает зоны проявления, частицы латекса, связавшие молекулы миоглобина, фиксируются на мембране, а не связавшие двигаются дальше и фиксируются в зоне контроля.

Затем с помощью экспресс-фотометра **RAMP Clinical Reader** измеряют интенсивность флуоресценции, излучаемой комплексами частиц, иммобилизованными в зоне проявления и в зоне контроля. По соотношению интенсивности флуоресценции в этих двух зонах экспресс-фотометр рассчитывает концентрацию вещества в исходной пробе. Для получения более подробной информации об использовании экспресс-фотометра **RAMP Clinical Reader** пользуйтесь Руководством пользователя.

© Перевод на русский язык ЗАО «АНАЛИТИКА», Москва, 2010 тел.: 737-0363, факс: 737-0365, e-mail: info@analytica.ru

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Необходимые материалы и реагенты, входящие в состав набора	Количество
Упаковки, содержащие одну тест-кассету (RAMP Myoglobin Test Cartridge) и один наконечник (Assay Tip)	25
Пробирки с Раствором для разведения образцов (RAMP Myoglobin Sample Buffer Vials)	25
Микропипетка (Transfer Device)	1
Карточка серии (Lot Card)	1
Инструкция	1

Необходимое оборудование, не входящее в состав набора	Рекомендуемые материалы и оборудование, не являющиеся необходимыми
Экспресс-фотометр RAMP или RAMP 200	Коммерческие материалы для контроля качества

Реагенты:

- Набор для определения миоглобина **RAMP Миоглобин** содержит все реагенты, необходимые для количественного определения миоглобина в цельной крови (ЭДТА).
- Раствор для разведения образцов представляет собой фосфатный буферный раствор, содержащий сывороточный альбумин животных, сурфактант и проклин 300/проклин 950 (ProClin®300/ProClin®950) в качестве консерванта.
  ProClin - зарегистрированная торговая марка компании Rohm and Haas.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Набор содержит реагенты человеческого и/или животного происхождения. С ними нужно обращаться как с потенциально биологически опасными.
- Проклин может оказывать раздражающее действие на кожу. Избегайте выплескивания и разбрызгивания реагентов, содержащих проклин. При их попадании на кожу или одежду тщательно промойте поверхности большим количеством воды.
- Соблюдайте необходимые меры предосторожности при взятии, обработке, хранении и утилизации образцов крови, в том числе разведенных, а также при использовании компонентов набора. Следуйте указаниям действующих нормативов по утилизации биологических отходов.
- Тест-кассеты и наконечники, имеющие видимые повреждения или нарушенную упаковку, <u>использовать нельзя</u>.
- <u>Не используйте</u> компоненты набора по истечении срока годности.
- <u>Не допускается</u> использование реагентов из других наборов.
- Использованные тест-кассету, наконечник и пробирку, в которой находился раствор для разведения образца, выбрасывают. <u>Повторное использование не допускается</u>.
- Используйте тест-кассеты не позднее, чем через 60 минут после вскрытия упаковки.
- Разведенный образец следует вносить только в лунку для образца.
- Проследите за тем, чтобы тест-кассета, помещаемая в экспресс-фотометр, не была испачкана снаружи кровью или другой жидкостью. Это может привести к контаминации и повреждению прибора. Если нужно, протрите поверхность тест-кассеты тканью, смоченной раствором слабого детергента или неорганического дезинфицирующего средства.
- Исследование образцов крови с высокой степенью гемолиза может привести к получению неверных результатов. Следует взять для анализа другой образец.
- На упаковке набора использованы следующие символы:

Символ	Расшифровка
LOT	Номер серии
	Использовать до
2	Повторно не использовать
i	Смотри в инструкции
	Внимание! См. в сопроводительных документах
	Температура хранения
EC REP	Европейский уполномоченный представитель
IVD	Для in vitro диагностики

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Поскольку миоглобин не является белком, специфичным только для сердечной мышцы, его содержание в крови может изменяться при повреждении других мышечных тканей (см. раздел «Введение»).
- Образцы крови больных, которым с диагностическими или терапевтическими целями вводили препараты на основе мышиных моноклональных антител, могут содержать человеческие антитела к иммуноглобулинам мыши. Кроме того, в образцах могут присутствовать и другие гетерофильные антитела. При исследовании таких образцов методами иммуноанализа могут быть получены как ложно завышенные, так и ложно заниженные результаты. При разработке набора **RAMP Миоглобин** были приняты меры для снижения эффекта гетерофильных антител. Тем не менее, если есть основания предполагать, что они могут содержаться в исследуемом образце, при интерпретации результатов следует учитывать возможность такой ошибки.
- Образцы сыворотки или плазмы крови, взятые с применением иного антикоагулянта, чем ЭДТА, в том числе гепарина, не исследовались. Использовать такие образцы не следует.
- Результаты анализа, которые не соответствуют клинической картине, следует интерпретировать с осторожностью.
- Результаты данного анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с данными других диагностических исследований и клинической информацией.

Если во время измерения на дисплее появляется сообщение «HIGH BACKGROUND SEE PACKAGE INSERT» («Высокое значение фона, смотри инструкцию по применению»), образец следует развести в 2 раза и повторить анализ в новой тест-кассете.

1. Для разведения потребуется физиологический раствор, одноразовый наконечник для автопипетки (1-200 мкл) и пробирка или флакон подходящего объема (в состав набора не входят).
2. Плотно наденьте наконечник на микропипетку. Выжмите плунжер микропипетки до конца и перенесите наконечник в емкость с физиологическим раствором. Медленно отпуская плунжер, заполните наконечник. Перенесите наконечник в пробирку (флакон) для разведения и, нажимая плунжер, внесите в нее раствор.
3. Не меняя наконечник, до конца выжмите плунжер и перенесите наконечник в емкость с образцом крови (ЭДТА); образец до этого должен быть хорошо перемешан. Медленно отпуская плунжер, заполните наконечник. Перенесите наконечник в пробирку для разведения, содержащую физиологический раствор, и, нажимая плунжер, внесите в нее образец крови.
4. Медленно нажимая и отпуская плунжер, перемешайте разведенный образец. Нажмите на плунжер до конца, выньте наконечник из пробирки и сбросьте его в емкость для обеззараживания отходов.
5. Проведите анализ с разведенным образцом (см. раздел «Проведение анализа»)
6. При учете результатов умножьте полученное значение концентрации миоглобина на 2.

ХРАНЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ НАБОРА

Тест-кассеты и пробирки с раствором для разведения образцов хранят при температуре 2-8 °С. Перед проведением анализа компоненты набора необходимо выдержать при комнатной температуре по меньшей мере в течение 15 минут. Извлеченные из холодильника компоненты набора сохраняют стабильность при хранении при комнатной температуре (15-25 °С) в течение 14 дней, но не дольше даты срока годности, указанной на упаковке. В этом случае с помощью маркера проставьте дату начала и

окончания хранения при комнатной температуре на упаковках тест-кассет, пробирках с раствором для разведения образцов и/или на коробке набора.

ПРИМЕЧАНИЕ: Замораживание компонентов набора не допускается.

ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Анализ должен быть проведен в пределах 2 часов после взятия крови из вены. Если это невозможно, цельную кровь, взятую с ЭДТА, можно хранить при температуре 2-8 °С до 5 дней.

ПРИМЕЧАНИЯ: Перед проведением анализа образец крови следует тщательно перемешать. Исследуйте только цельную кровь, в качестве антикоагулянта используйте только ЭДТА. Не используйте гепаринизированную цельную кровь, плазму или сыворотку крови.

КАЛИБРОВКА

Каждый набор **RAMP Миоглобин** включает карточку серии, вложенную в индивидуальную антистатическую упаковку. Карточка серии содержит информацию, специфичную для тест-кассет данной серии, в том числе номер серии, срок годности и параметры калибровочной кривой. Более подробная информация содержится в Руководстве пользователя экспресс-фотометра RAMP. Вся информация, необходимая для калибровки, вводится в экспресс-фотометр с помощью карточки серии. Это делается только один раз для каждой серии наборов.

ПОДКЛЮЧЕНИЕ ЭКСПРЕСС-ФОТОМЕТРА

Перед первым использованием наборов данной серии извлеките карточку серии из упаковки и вставьте ее в щель для карточки серии под клавиатурой экспресс-фотометра RAMP. После загрузки информации верните карточку в упаковку.

ВНИМАНИЕ! Не касайтесь контактов на конце карточки серии.

⚠ Для получения дополнительной информации по работе на экспресс-фотометре RAMP пользуйтесь Руководством пользователя прибора.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПРИМЕЧАНИЕ: Перед проведением анализа все необходимые реагенты необходимо выдержать при комнатной температуре в течение по меньшей мере 15 минут. Для <u>каждого</u> образца, который будет исследован, потребуется одна пробирка с раствором для разведения образцов и одна упаковка, содержащая тест-кассету и наконечник с латексными частицами.

1. Поместите пробирку с раствором для разведения образцов справа на сухую горизонтальную поверхность или в соответствующий штатив.
2. Вскройте упаковку, содержащую одну тест-кассету **RAMP Myoglobin** и один наконечник. Поместите тест-кассету на чистую сухую горизонтальную поверхность.
3. Плотно наденьте наконечник на микропипетку.
4. Тщательно перемешайте образец цельной крови (ЭДТА), несколько раз перевернув закрытую пробирку с ним. Снимите крышку с пробирки, содержащей раствор для разведения образцов.
5. Выжмите плунжер микропипетки до конца и погрузите наконечник в образец крови. **<u>Не перемешивайте образец крови пипетированием, набирая кровь в наконечник и выпуская ее! Это приведет к потере частиц латекса.</u>**
6. Медленно отпустите плунжер, заполняя наконечник, и сразу перенесите наконечник в пробирку с раствором для разведения образцов. Опустите кончик наконечника почти до дна пробирки, но не касайтесь дна. **Не прижимайте кончик ко дну пробирки, это может помешать перемешиванию**.
7. Смешайте образец с раствором для разведения, **<u>медленно</u>** выжимая и отпуская плунжер 10 раз (2 секунды на цикл). Старайтесь каждый раз выпускать в пробирку полный объем смеси. Избегайте попадания воздуха в наконечник при перемешивании, чтобы не образовалась пена.
8. <u>Сразу</u> после перемешивания внесите разведенный образец крови в лунку для образца тест-кассеты. При этом держите наполненный наконечник строго над лункой и выжимайте плунжер до конца. На оставшиеся в наконечнике капли можно не обращать внимания.
9. Сразу после внесения образца (не позже, чем через 30 секунд) поместите тест-кассету в экспресс-фотометр RAMP и слегка нажимайте на нее, пока не ощутите сопротивление. Опоздание со вводом тест-кассеты приведет к тому, что прибор не примет кассету и выдаст сообщение об ошибке.

ВНИМАНИЕ! Проследите за тем, чтобы на тест-кассете, помещаемой в экспресс-фотометр, не было капель жидкости. Это может привести к контаминации или повреждению прибора. Если нужно,

протрите поверхность тест-кассеты тканью, смоченной раствором слабого детергента или неорганического дезинфицирующего средства.

10. Экспресс-фотометр RAMP примет тест-кассету и начнет отсчет времени проведения анализа. Примерно через 15 минут после ввода тест-кассеты анализ будет закончен, и экспресс-фотометр проведет измерение, обработает полученные данные и выведет сообщение о результатах анализа на жидкокристаллический дисплей.
11. Проведите учет результатов.

⚠ Для получения дополнительной информации по распечатке результатов и/или пересылке их на основной компьютер, пожалуйста, воспользуйтесь Руководством пользователя экспресс-фотометра RAMP.

12. Удалите использованную тест-кассету после появления соответствующей надписи на дисплее экспресс-фотометра. Обработайте использованные тест-кассету, наконечник и пробирку из-под раствора для разведения образцов в соответствии с установленными в лаборатории правилами утилизации биологических отходов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества системы

- Экспресс-фотометр RAMP осуществляет самодиагностику и выявляет наличие ошибок, что позволяет обеспечить контроль качества проведения анализа, в том числе приготовления образца, работы персонала и самого процесса иммунохроматографического разделения.
- При выявлении проблемы на дисплее появляется сообщение об этом.
- Результаты исследования образцов появляются на дисплее только при соответствии всех параметров требованиям контроля качества.

⚠ Полная детальная информация о работе прибора и возможных неисправностях приведена в Руководстве пользователя экспресс-фотометра RAMP.

Контроль качества проведения анализа

Тест **RAMP Миоглобин** имеет запрограммированные контрольные показатели качества проведения анализа. Каждая тест-кассета имеет зону внутреннего контроля, успешное сканирование которой свидетельствует о правильном движении образца в кассете. Контрольные параметры для каждой серии тест-кассет устанавливаются в процессе производства и включены в карточку данной серии. Если результаты контроля не удовлетворяют спецификации, результат исследования образца не выдается, а на дисплее появляется соответствующее сообщение.

Внешний контроль качества

- Рекомендуется периодически проводить контроль качества с использованием коммерческих контрольных материалов. Руководствуйтесь действующими правилами.
- При проведении контроля качества действуйте в соответствии с разделом «Проведение анализа» данной инструкции. Обращайтесь с контрольным образцом, как с образцом цельной крови.
- Проведение внешнего контроля качества не является обязательным требованием при работе с набором **RAMP Миоглобин**.

Текущие сообщения экспресс-фотометра

Если экспресс-фотометр RAMP не может продолжать выполнение текущего задания, раздается звуковой сигнал тревоги, а на дисплее появляется соответствующая надпись.

⚠ Для получения полной информации по всем текущим сообщениям воспользуйтесь разделом о возможных неисправностях Руководства пользователя экспресс-фотометра RAMP. Если при повторном проведении анализа получены неожиданные или неправдоподобные результаты, обратитесь за помощью в нашу группу технической поддержки.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность

Точность набора **RAMP Миоглобин** оценивали, проводя по два повторных исследования стандартов (50, 100 и 200 нг/мл) дважды в день в течение 10 дней. Для каждого образца рассчитывали среднее арифметическое значение концентрации, стандартное отклонение и %CV.

Точность	Стандарты миоглобина		
	50 нг/мл	100 нг/мл	200 нг/мл
Измерение в течение одного дня	13,0%	6,7%	6,5%
Между постановками	13,8%	9,7%	9,1%
Точность в целом	14,3%	10,4%	10,6%

Линейность

Используя не содержащую миоглобин сыворотку крови, готовили образцы с концентрацией миоглобина 10, 50, 75, 100, 150, 200 и 350 нг/мл. Линейность определяли, проводя по пять измерений каждого образца. Рассчитывали среднее арифметическое значение концентрации миоглобина, стандартное отклонение и %CV. В результате линейно-регрессионного анализа фактически полученных концентраций миоглобина относительно теоретически ожидаемых концентраций получены следующие значения: R = 0,998, наклон линейной регрессии 1,07, смещение по оси Y 1,143.

Эффект прозоны

«Эффект прозоны» (снижение регистрируемого сигнала при высоких концентрациях определяемого вещества) в наборе **RAMP Миоглобин** не обнаружен вплоть до максимальной исследованной концентрации 8000 нг/мл.

Аналитическая чувствительность

Минимально определяемую концентрацию (МОК) оценивали как концентрацию определяемого вещества, соответствующую среднему арифметическому значению (n = 20) нулевого стандарта плюс 2 стандартных отклонения. МОК составила 2,4 нг/мл миоглобина.

Уровни миоглобина, превышающие 400 нг/мл, регистрируются как «> 400 нг/мл».

Аналитическая специфичность

Наличие в образце ревматоидного фактора в концентрации, превышающей 1300 МЕ/мл, может привести к ошибочным результатам измерения. В таких случаях следует использовать другой метод определения миоглобина.

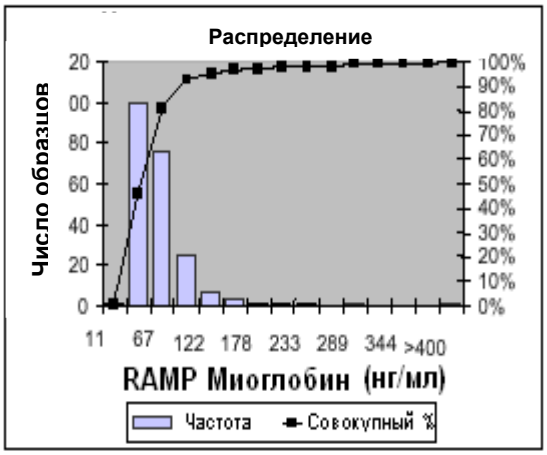
Влияние других факторов

Влияние на анализ потенциальных перекрестно реагирующих веществ определяли, добавляя различные их концентрации в образец крови с концентрацией миоглобина, равной 100 нг/мл. Влияние каждого вещества определяли, используя отдельные образцы крови. Концентрацию миоглобина определяли в образце с добавленным веществом и выражали в процентах от концентрации миоглобина в образце без добавки. Не выявлено перекрестной реакции или влияния гемоглобина, триглицеридов, билирубина, холестерина или кумадина при концентрациях, превышающих максимально возможные физиологические концентрации: до 2000 мг/дл, 3000 мг/дл, 60 мг/дл, 2000 мг/дл и 200 мкг/мл, соответственно. При дальнейшем увеличении концентрации добавок тенденции к увеличению измеренных значений концентраций миоглобина не наблюдалось.

КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Ожидаемые значения

Исследованная группа состояла из равного числа здоровых мужчин и женщин. Минимальный (МиПН) и максимальный (МаПН) пределы нормальных значений определяли при 5% и 95% процентилях (процент определяется в каждой отдельной лаборатории). Распределение приведено на гистограмме.



	n	МиПН, нг/мл	МаПН, нг/мл
Всего	219	19,15	99,3

Оценка точности двух параллельных измерений на клиническом материале

Выборка для оценки точности (184 человека) составила часть группы, сформированной для сравнительного исследования с использованием референтного набора (см.ниже). Концентрацию миоглобина измеряли в 2 параллельных образцах. 5 участников были исключены из исследования, так как были получены слишком низкие значения концентрации миоглобина (сообщение на дисплее «LOW SIGNAL…»), а взять образцы крови повторно не удалось. Из оставшихся 179 человек 77 (40 мужчин и 37 женщин) составили группу здоровых лиц, а у 102 (63 мужчины и 39 женщин) на основании клинических данных подозревался диагноз ОИМ. Полученные данные учитывались в пределах каждой группы. По 2 крайних значения не учитывались как возможные выбросы. Ниже приведены показатели корреляционного анализа для набора **RAMP Миоглобин:** данные, полученные в образцах №2, относительно образцов №1.

Популяция	n	Наклон y =	Отрезок	R
Больные с подозрением на ОИМ	102	0,9750x	1,9026	0,986
Здоровые лица	77	0,9013x	3,7143	0,967
В целом	179	0,9702x	0,9349	0,968

Сравнительное исследование с использованием референтного набора

Группа для сравнительного исследования методов состояла из 429 человек. 14 из них были исключены из исследования, так как были получены слишком низкие значения концентрации миоглобина (сообщение на дисплее «LOW SIGNAL…»), а взять образцы крови повторно не удалось. Из оставшихся 415 человек 196 (92 мужчины и 104 женщины) составили группу здоровых лиц, а у 219 (131 мужчина и 88 женщин) на основании клинических данных подозревался диагноз ОИМ. Аликвоту цельной крови брали для RAMP анализа, из остальной части образца получали плазму для анализа с помощью набора **Beckman ACCESS Myoglobin Assay**. Образцы хранили в холодильнике до 5 дней. По 3 крайних точки из полученных значений не учитывались как возможные выбросы. Ниже приведены показатели корреляционного анализа для набора **RAMP Миоглобин** относительно набора **Beckman ACCESS Myoglobin Assay**.

Популяция	n	Наклон y =	Интерсепт	R
Больные с подозрением на ОИМ	219	1,0059x	29,576	0,928
Здоровые лица	196	1,3831x	15,609	0,889
В целом	415	1,0309x	25,905	0,932

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

Внимание! *Перевод сделан с английского оригинала инструкции. Перед постановкой исследования сверьте номер и дату издания вложенного в набор оригинала с указанными в настоящем переводе (см.*

внизу справа). При несовпадении номеров или дат обратитесь в компанию «Аналитика» за новым переводом либо руководствуйтесь оригиналом инструкции.

RAMP Myoglobin Assay-C1103.doc 1/25/2010 3:41:00 PM Оригинал PN: 50066-Rev15 2008-09

© Перевод на русский язык ЗАО «АНАЛИТИКА», Москва, 2010 тел.: 737-0363, факс: 737-0365, e-mail: info@analytica.ru