

Кат. № PF1201-K Presepsin IVD Только для диагностики ин-витро

PATHFAST™ Presepsin
<РЕАГЕНТЫ ДЛЯ PATHFAST>
60 определений

Назначение

Набор реагентов PATHFAST Presepsin предназначен для ин-витро диагностики на анализаторе PATHFAST и служит для количественного определения концентрации пресепсина (sCD14-ST) в цельной крови и плазме. Результат анализа используется для помощи в диагностике и прогнозе развития сепсиса, для оценки тяжести сепсиса и стратификации риска критических пациентов с сепсисом.

Описание

CD14 является гликопротеином, который экспрессируется на поверхности мембраны моноцитов/макрофагов (mCD14) и служит рецептором для комплексов липополисахаридов (ЛПС) и ЛПС-связывающего белка (LPBP). mCD14 локализуется на поверхности клеток вместе с toll-подобным рецептором 4 (TLR4). После связывания LPBP чужеродных липополисахаридов CD14 активизирует TLR4-специфичный провоспалительный сигнальный каскад, тем самым запуская воспалительную реакцию организма против инфекционных агентов. Комплекс LPS-LPBP-CD14 высвобождается в кровь путем отщепления CD14 от клеточной мембраны и перехода в растворимую форму (sCD14). Однако, активность протеаз плазмы образует и другую sCD14 молекулу, которая называется sCD14 подтипа ST (sCD14-ST), или пресепсин¹. Уровни пресепсина значительно выше у пациентов с сепсисом, нежели у пациентов с ССВО (синдром системного воспалительного ответа) или у практически здоровых людей^{1,2}. Один из механизмов секреции пресепсина связан с процессом фагоцитоза и расщепления микроорганизмов ферментами лизосом³. Уровни пресепсина повышаются раньше, чем уровни интерлейкина 6 (IL-6) и Д-димера и одновременно с появлением в крови бактерий из проколотой перевязанной слепой кишки кролика в эксперименте (CLP)⁴.

Определение концентрации пресепсина может быть полезным не только для диагностики и прогноза исхода сепсиса, но и для мониторинга течения заболевания и ответа на терапевтическое вмешательство^{5,6}.

PATHFAST Presepsin является анализом для измерения пресепсина в формате хемилуминисцентного иммуоферментного анализа (CLEIA). В тесте используются моноклональные и поликлональные антитела против пресепсина. Все необходимые для проведения тестирования компоненты упакованы в одном картридже. После загрузки картриджа PATHFAST Presepsin в диагностический анализатор in vitro PATHFAST, количественный результат может быть получен через 15 минут.

Состав набора

Картриджи с реагентами: 6 картриджей x 10 коробок.

Картридж с реагентами состоит из 16 лунок. Все лунки кроме лунки для образца (№1) и счетной лунки (№10) запечатаны алюминиевой фольгой со штрих-кодом. Каждая лунка картриджа заполнена реагентами для тестирования.

Лунки	Форма	Состав	Количество	Источник
№1	Пустая	Лунка для образца		
№2	Жидкая	Щелочная фосфатаза, конъюгированная с PoAb* к пресепсину в MES*** Буфере Натрия азид	50 мкл < 0,1%	Микробная Кроличы
№7	Жидкая	MoAb** к пресепсину на магнитных частицах в MES Буфере	50 мкл	Мышиные
№13	Жидкая	Хемилуминисцентный субстрат CDP-Star®	100 мкл	
№11	Жидкая	Буфер для разведения образцов в составе: Трис-буфер	25 мкл	
№3, 4, 5	Жидкая	Промывочный буфер в составе: MOPS****-буфер Натрия азид	400 мкл < 0,1%	

*PoAb - поликлональные антитела

**MoAb - моноклональные антитела

**MES - 2-морфолиноэтансульфоновая кислота, моногидрат

**MOPS - 3-морфолинопропансульфоновая кислота

№№ 1, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16 – пустые лунки

CDP-Star® - зарегистрированная торговая марка Applied Biosystems

Калибраторы

- Калибратор 1 (CAL-1) 2 мл x 2 флакона (жидкий, готов к использованию)
- Калибратор 2 (CAL-2) для 1,2 мл x 2 флакона (лиофилизированный)
- Разбавитель для калибратора 1,2 мл x 2 флакона (жидкий)
(с натрия азидом 0,05%)

Параметрическая карта MC ENTRY CARD 1 штука
Инструкция 1 штука
Паспорт контроля качества 1 штука

Необходимые, но не поставляемые материалы и оборудование

Анализатор PATHFAST™ и расходные материалы

Контрольные материалы для пресепсина

Принцип анализа

Процедура проведения анализа PATHFAST Presepsin основана на методе CLEIA с использованием технологии MAGTRATION®. В этой процедуре поликлональные антитела к пресепсину, связанные со щелочной фосфатазой, и моноклональные антитела к пресепсину на магнитных частицах смешиваются с образцом. Пресепсин образца связывается с антителами к нему, образуя иммуокомплекс с мечеными ферментом антителами и антителами на магнитных частицах. После удаления несвязавшегося материала к иммуокомплексу добавляется хемилуминисцентный субстрат. После короткой инкубации под воздействием ферментной реакции в смеси начинается люминесценция, интенсивность которой зависит от концентрации пресепсина в образце. Расчет результата проводится по стандартной калибровочной кривой.

*MAGTRATION® - технология разделения В/Ф (связанных/свободных) магнитных частиц с промывкой в наконечниках. Технология является зарегистрированной торговой маркой Precision System Science.

Меры предосторожности

Картриджи с реагентами

- Не использовать реагенты по окончании срока хранения.

2. Не использовать картриджи повторно, это одноразовые расходные материалы.
3. Не снимать алюминиевую фольгу с картриджа.
4. Держать картридж только за край и не касаться пальцами алюминиевого покрытия и черной счетной лунки.
5. Не пользоваться поврежденными картриджами или картриджами, которые уронили.
6. Избегать попадания слюны в черную счетную лунку.
7. Избегать загрязнения реагентов и их экспозиции на прямом солнечном свету.
8. При некоторых условиях хранения и транспортировки может наблюдаться слипание алюминиевого покрытия картриджей. Если такое наблюдается, аккуратно разделите картриджи на столе.
9. Азид натрия, содержащийся в реагентах, может вступать в реакцию с медью и свинцом в водопроводных системах с образованием взрывоопасных солей. Содержание этого вещества в реагентах крайне мало, но, тем не менее, при утилизации азид-содержащих материалов, они должны смываться большим количеством воды.
10. Использованные картриджи содержат биологические жидкости. Утилизировать отходы в соответствии с национальными правилами утилизации биологических отходов. Соблюдать общие меры предосторожности и обращаться со всеми компонентами как с потенциально инфекционными агентами.
11. Не использовать реагенты, хранившиеся при комнатной температуре.

Условия хранения

Хранить при +2 +8°C. Не открывать картридж до использования.

Срок хранения

Срок хранения указан на картридже, коробке и упаковке.

Сбор проб

1. Использовать цельную кровь или плазму, собранные стандартной процедурой в пробирки с гепарином или ЭДТА. Не использовать для анализа сыворотку крови.
2. Образцы цельной крови должны быть проанализированы в течение 4 часов после сбора. Непосредственно перед внесением образца цельной крови в лунку на картридже, следует аккуратно смешать кровь в пробирке (не использовать вихревой смеситель вортекс). Немедленно после внесения образца нужно загрузить картридж в прибор и начать тестирование.
3. Перед использованием образца следует убедиться, что он не содержит фибриновых нитей и других нерастворимых частиц, в противном случае образец необходимо осветлить центрифугированием или фильтрацией.
4. Образцы плазмы можно хранить до 3 дней при +2 - 8°C и до 9 месяцев при -20°C или ниже. Если тестирование не предполагается проводить в течение 3 дней, образцы плазмы следует заморозить при -20°C или ниже. Размороженные образцы не замораживать повторно.
5. Образцы перед внесением следует осторожно перемешать (не использовать вихревой смеситель вортекс).
6. Размороженные образцы и образцы, хранившиеся более 12 часов необходимо отцентрифугировать при 2500 - 3000 g в течение 10 минут перед тестированием.

Подготовка реагентов и проведение анализа

Подготовка реагентов

1. Картридж с реагентами
Готов к использованию.
2. Калибратор CAL-1
Готов к использованию.
3. Калибратор CAL-2

Восстановить каждый флакон CAL-2 при помощи содержимого одного флакона разбавителя для калибратора. Восстановленный калибратор может храниться до 24 часов при +2 - 8°C и до 6 месяцев при -20°C и ниже. Калибратор нельзя замораживать повторно.

ПРИМЕЧАНИЕ:

1. Используйте одинаковые лоты CAL-1, CAL-2, разбавителя для калибратора и реагентного картриджа для PATHFAST. Никогда не смешивайте разные лоты реагентов.
2. CAL-2 содержит бычий сывороточный альбумин (BCA). Обращаться с осторожностью, избегать контакта с кожей.

Установка основной калибровочной кривой

1. Установка проводится каждый раз при начале использования нового лота реагентов.
2. Установка основной калибровочной кривой производится путем считывания штрих-кода ручным считывателем штрих-кодов для PATHFAST на карте MC ENTRY CARD, которая вкладывается в каждую упаковку.

Пользовательская калибровка

1. Пользовательская калибровка необходима, когда начинает использоваться новый лот реагентов, после установки основной калибровочной кривой по параметрической карте MC ENTRY CARD.
2. Пользовательскую калибровку необходимо обновлять каждые 4 недели после проведения первой калибровки (MC ENTRY CARD для этого не нужна).
3. Оба калибратора, CAL-1 и CAL-2, должны тестироваться в дублях. Следовательно, для проведения калибровки требуются 4 картриджа, два для CAL-1 и два для CAL-2.
4. Установите реагентные картриджи в кассету для картриджей, потом внесите примерно по 100 мкл CAL-1 и CAL-2 в лунки для образца и запустите прибор PATHFAST.
5. Выполните пользовательскую калибровку в соответствии с руководством пользователя для прибора PATHFAST.

Контроль качества

1. Контроль качества проводится после каждой калибровки, чтобы проверить калибровочные кривые и сохранить данные контрольных образцов для контроля качества анализов. Контроль качества обязателен для гарантии точности результатов. После каждой калибровки, в каждой новой партии ранее калиброванного тестового набора реагентов, или всякий раз, когда необходимо проверить точность результатов, нужно сравнить оба уровня материалов контроля качества с известными уровнями пресепсина (sCD14-ST).
2. Правила GLP (Надлежащей лабораторной практики) рекомендуют использование соответствующего контроля качества. Для контроля качества рекомендуется соблюдать положения федеральных, областных и местных правил. Если контроль не проводится надлежащим образом, не используйте результаты тестов. Повторите тест или обратитесь к вашему авторизованному дистрибьютору PATHFAST для технической поддержки.

Процедура тестирования образцов

1. Используйте гепаринизированную или ЭДТА цельную кровь или плазму в качестве образца.
2. Установите реагентный картридж в кассету для картриджей, потом внесите примерно 100 мкл образца в лунку для образца на картридже и запустите прибор PATHFAST.
3. Проведите тестирование на приборе.

Примечания:

1. Если тестируется цельная кровь, непосредственно перед внесением образца в лунку на картридже следует осторожно смешать кровь в пробирке (не использовать вихревой смеситель вортекс). Немедленно после внесения образца нужно загрузить картридж в прибор и начать тестирование.
2. Если образцы начинают тестироваться после более чем 5-минутной выдержки после внесения образца в лунку, может быть получен заниженный результат в крови из-за ее осаждения и завышенный результат в плазме из-за ее концентрирования.

3. При использовании цельной крови ввод значения гематокрита образца в PATHFAST является дополнительной опцией.
4. Образцы с концентрацией пресепсина >20 000 пг/мл следует развести физраствором и протестировать повторно для получения точного результата. При этом необходимо учитывать коэффициент разведения. Если такая точность не нужна, можно указать результат, как >20 000 пг/мл.

Ожидаемые уровни

Референтный диапазон

В первом исследовании было обнаружено, что референтные уровни пресепсина не зависят от возраста и пола. Концентрацию пресепсина определяли в образцах ЭДТА-плазмы 230 практически здоровых лиц.

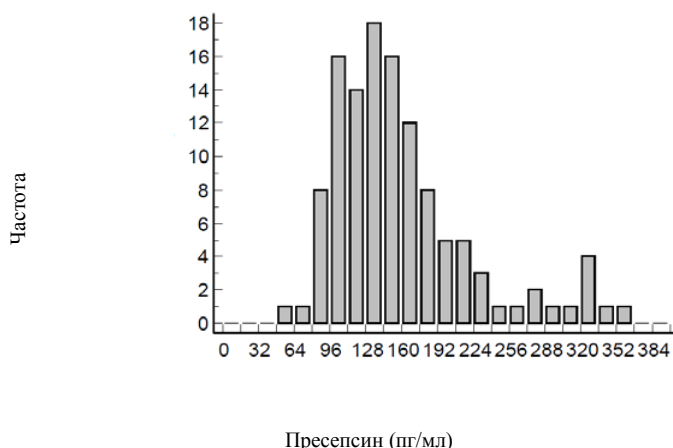
Возраст:	Все	<30 лет	30-39 лет	40-49 лет	> 50 лет
Среднее	155	152	158	146	164
С.О. *	54,2	54,5	38,7	48,4	66,7
Медиана	145	141	150	136	152
95 перцентиль	327	332	270	265	346
Количество обследованных	230	55	46	63	66

Пол:	Все	Мужчины	Женщины
Среднее	155	152	156
С.О. *	54,2	54,4	54,1
Медиана	145	142	148
95 перцентиль	327	328	318
Количество обследованных	230	126	104

* С.О. - среднее отклонение

Второе исследование проводилось на 119 образцах ЭДТА-плазмы от практически здоровых лиц. Уровень пресепсина находился в диапазоне от 60 до 365 пг/мл со среднеарифметическим значением 160 пг/мл; 95% CI (148-171 пг/мл). 5-ый перцентиль составлял 92 пг/мл (95% CI 79-100 пг/мл), а 95-й перцентиль - 320 пг/мл (95 % CI 233-363 пг/мл). ROC-анализ показал отрезной «cut off» уровень в 337 пг/мл для дискриминации между здоровыми лицами и пациентами с сепсисом.

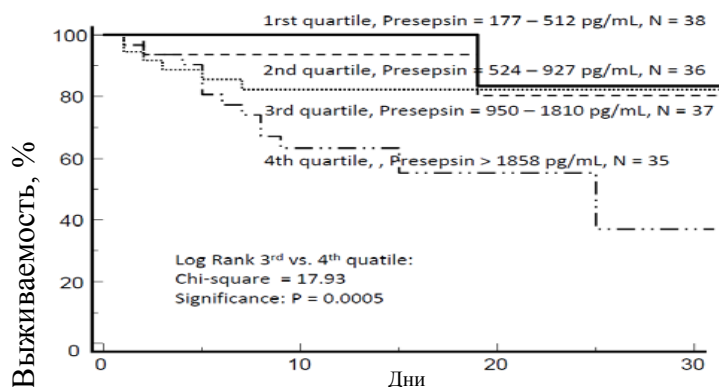
Распределение уровней пресепсина у здоровых лиц (кол-во = 119)



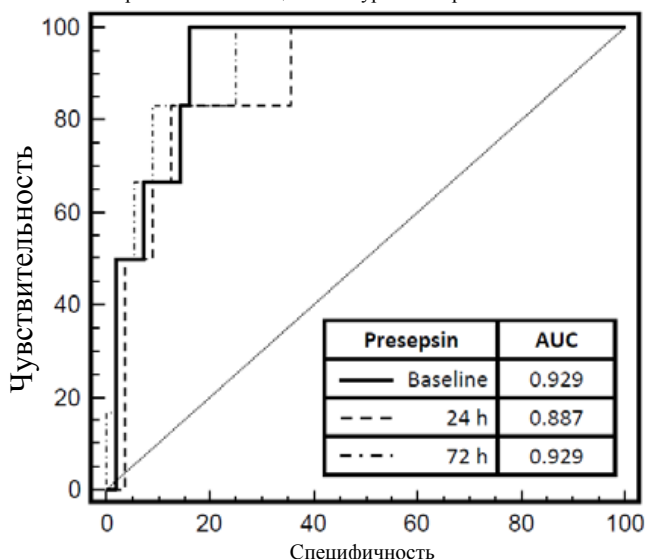
Замечание: Ожидаемые/референтные уровни могут варьировать в зависимости от лаборатории и местности и зависеть от многих факторов. Поэтому каждой лаборатории следует устанавливать свои собственные референтные уровни. Уровни пресепсина повышаются при клинически значимых микробных инфекциях и продолжают расти с увеличением тяжести заболевания^{3,5}. Однако, в зависимости от индивидуальной иммунной реакции и клинической ситуации, при одной и той же инфекции могут наблюдаться разные концентрации пресепсина. Таким образом, врачи должны интерпретировать результаты в свете других лабораторных данных и клинической картины заболевания и в контексте клинической ситуации пациента. Поэтому контрольные диапазоны приведены только для ориентировки.

Прогностическое значение пресепсина

У больных с подозрением на сепсис, у которых впоследствии развился сепсис, были определены уровни пресепсина в начале заболевания и просчитана корреляция с 30-дневной смертностью. Анализ выживаемости по Каплану-Мейеру в течение 30 дней после поступления в больницу показал, что пациенты со значениями пресепсина при госпитализации в самой высокой четверти (>1 858 пг/мл) имели риск смертности >60% (p = 0,0005), в то время как пациенты со значениями пресепсина в нижней четверти имели риск смертности на 20% ниже.



На рисунке ниже представлены результаты ROC анализа прогноза смертности при уровнях пресеписина на момент госпитализации и через 24 и 72 часа соответственно. Прогностическая ценность уровней пресеписина на момент госпитализации и спустя 72 часа была примерно одинаковой (AUC = 0.929).



Специфические рабочие характеристики теста

Рабочие характеристики PATHFAST Presepsin представлены ниже.

1. Диапазон результатов: 20-20 000 пг/мл.

2. Корреляция между результатами по цельной крови и плазме

$$y = 1,04x - 10,8, r = 0,986, n = 104$$

(y – ЭДТА цельная кровь, x – ЭДТА плазма)

$$y = 1,02x + 28,6, r = 0,980, n = 104$$

(y – гепаринизированная цельная кровь, x – ЭДТА плазма)

$$y = 1,01x + 26,9, r = 0,983, n = 104$$

(y – гепаринизированная плазма, x – ЭДТА плазма)

3. Стандартизация

Калибраторы для PATHFAST Presepsin были получены с помощью аминокислотного анализа¹⁰.

4. Точность измерений

Воспроизводимость определялась с помощью настоящего метода на 4 контрольных материалах по следующему протоколу: каждый из четырех образцов плазмы исследовался в дублях в течение 20 случайных дней. Внутритестовые и общие стандартные отклонения рассчитывались по протоколу NCCLS, документ EP5-A2 [ISBN 1-56238-542-9]. Были получены следующие результаты.

Образец	Среднее (пг/мл)	Внутритестовая точность		Межтестовая точность	
		С.О. (пг/мл)	К.В. (%)	С.О. (пг/мл)	К.В. (%)
QC-LL	445	19,8	4,4	19,4	4,4
QC-L	882	25,9	2,9	35,0	4,0
QC-M	4 801	154	3,2	183	3,8
QC-H	19 292	753	3,9	956	5,0

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

5. Аналитическая чувствительность: 20 пг/мл.

Установлен как концентрация нулевого калибратора плюс 2 стандартных отклонения выше среднего значения нулевого калибратора.

6. Предел определения: 57,1 пг/мл.

Установлен как наименьшая концентрация, которая может последовательно определяться в тесте с коэффициентом вариации 10%.

7. Хук-эффект высокой дозы.

Не наблюдается до концентрации пресеписина 4 000 000 пг/мл.

8. Аналитическая специфичность.

Следующие вещества не оказывают существенного перекрестного влияния на результат теста PATHFAST Presepsin при указанных концентрациях.

sCD14 (4,0 мкг/мл) не обнаружено

Возможные взаимодействия

Как было обнаружено, следующие вещества в нижеуказанных концентрациях оказывали влияние менее 10% на результаты тестирования.

Связанный билирубин	40 мг/дл	Эритромицин	20 мг/дл
Триглицериды, липемия образца	1000 мг/дл	Фуросемид	6,0 мг/дл
Гемоглобин (при гемолизе)	600 мг/дл	Метилдопа	2,5 мг/дл
Ревматоидный фактор	500 МЕ/мл	Нифедипин	6,0 мг/дл
Ацетаминофен	20 мг/дл	Фенитоин	10 мг/дл
Ацетилсалициловая кислота	65,2 мг/дл	Теofilлин	25 мг/дл
Аллопуринол	4,0 мг/дл	Верапамил	16 мг/дл
Ампициллин	5,3 мг/дл	Белок (альбумин)	6 г/дл
Аскорбиновая кислота	6,0 мг/дл	Имипенем	2,0 мг/дл
Атенолол	1,0 мг/дл	Цефотаксим	200 мг/дл
Кофеин	10 мг/дл	Ванкомицин	4,0 мг/мл
Каптоприл	5,0 мг/дл	Норадреналин	4,0 мкг/мл
Дигоксин	0,61 мкг/дл	Добутамин	25 мкг/мл
Допамин	65 мг/дл	Гепарин	100 МЕ/мл
Свободный билирубин	40 мг/дл	ЭДТА	2,0 мг/мл

Ограничения процедуры

1. Система оповещения об ошибках в приборе содержит кодовые обозначения ошибок для предупреждения персонала о неисправностях. Любой отчет об ошибке, содержащий такие коды, должен быть сохранен.

2. Образцы пациентов могут содержать гетерофильные антитела, которые могут вступать в иммунную реакцию и таким образом влиять на результаты, как завышая, так и занижая их. Этот тест был разработан так, чтобы минимизировать такие влияния. Тем не менее, полная защита от такого






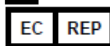





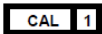
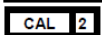

влияния не может быть гарантирована. Результат теста, не согласующийся с общей клинической картиной и анамнезом должен интерпретироваться с осторожностью.

3. Результаты теста PATHFAST Presepsin должны оцениваться в контексте полных лабораторных данных и клинической картины. Если лабораторные результаты не согласуются с клинической картиной и анамнезом пациента, нужно провести дополнительные тесты.

Ссылки

1. Shirakawa K, Naitou K, Hirose J, Takahashi T, Furusako S. Establishment of one-step ELISA detecting Presepsin (sCD14-ST): a new marker for sepsis. Clin Chem Lab Med. 2010 Submitted for publication.
2. Yaegashi Y, Shirakawa K, Sato N, Suzuki Y, Kojika M, Imai S, Takahashi G, Miyata M, Furusako S, Endo S. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis. J Infect Chemother. 2005 Oct; 11(5): 234-8.
3. Naitoh K, Shirakawa K, Hirose J, Nakamura M, Takeuchi T, Hosaka Y, Furusako S, The new sepsis marker, sCD14-ST (PRESEPSIN), induction mechanism in the rabbit sepsis models. SEPSIS 2010: P19.
4. Nakamura M, Takeuchi T, Naito K, Shirakawa K, Hosaka Y, Yamasaki F, Furusako S. Early elevation of plasma soluble CD14 subtype, a novel biomarker for sepsis, in a rabbit cecal ligation and puncture model. Critical Care 2008, 12 (Suppl 2) :P194 (doi:10.1186/cc6415).
5. Kojika M, Takahashi G, Matsumoto N, Kikkawa T, Hoshikawa K, Shioya N, Shibata S, Suzuki Y, Aoki H, Shirakawa K, Endo S. Serum levels of soluble CD14 subtype reflect the APACHE II and SOFA Scores. Medical Postgraduates 2010 Jan; 48(1): 46-50.
6. Takahashi G, Suzuki Y, Kojika M, Matsumoto N, Shozushima T, Makabe H, Yamada Y, Shioya N, Shibata S, Shirakawa K, Endo S. Evaluation of responses to IVIG therapy in patients with severe sepsis and septic shock by soluble CD14 subtype monitoring. Medical Postgraduates 2010 Jan; 48(1): 19-24.
7. The results of Japanese clinical study for PATHFAST Presepsin.
8. The results of European clinical study for PATHFAST Presepsin.
9. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992 Jun;101(6):1644-55.
10. The Japanese Pharmacopoeia Fifteenth Edition (JP15): Supplement II, Amino Acid Analysis of Proteins, 1814-1822.

Символы

	Соответствие европейским требованиям
	Для ин-витро диагностики
	Номер лота
	Каталожный номер продукта
	Производитель
	Уполномоченный представитель
	Содержимого достаточно для
	Температурные ограничения
	Срок хранения
	Обратите внимание на справочную документацию
	Следуйте инструкции
	Калибратор 1
	Калибратор 2
	Разбавитель

* PATHFAST – JP зарегистрированная торговая марка № 4685182