МИОГЛОБИН (myoglobin) 1107060

Турбидиметрический метод для определения миоглобина в сыворотке.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1107060 R1 1x20 мл буфер, R2 1x10 мл латекс-реагент

ПРИНЦИП

Полистироловые (латексные) частицы, покрытые антителами к миоглобину, дают агглютинацию при смешивании с пробами, содержащими миоглобин, происходит реакция антиген-антитело. Эта реакция определяется как изменение оптической плотности (турбидиметрический метод), это изменение пропорционально количеству миоглобина в пробе. Точная концентрация определяется по калибровочной кривой, построенной по стандартам с известной концентрацией.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Миоглобин является белком гема, присутствует в кардиомиоцитах и миоцитах скелетной мускулатуры и выделяется в кровь при повреждении этих клеток. Определение уровня миоглобина в сыворотке человека используется в диагностике инфаркта миокарда, мышечной дистрофии, миозитов и миопатий, а также для контроля лечения и прогноза заболевания. Очень рано в первые 2-3 часа после болевого приступа миоглобин появляется в высокой концентрации в периферической крови и может достигать патологических значений за несколько часов до появления других биохимических маркеров.

РЕАГЕНТЫ

Дилюент R1	Глициновый буфера, 150 ммоль/л, pH 9,0. Азид натрия 0,95 г/л	1x20 мл
Латекс-реагент R2	Латексные частицы, покрытые козьими антителами (IgG) к человеческому миоглобину, pH 7,3. Азид натрия 0,95 г/л	1x10 мл
Дополнительно: (не входят в набор)	Калибратор* миоглобина (код 1107062)	1x1 мл
	Контроль* миоглобина (код 1107063)	1x2 мл

* В производстве использована сыворотка человека. Каждый донорский материал тестирован с использованием рекомендованных FDA методов, имеет отрицательный результат на HBsAg и не дает реакции на антитела к ВИЧ.

КАЛИБРОВКА

Чувствительность теста и целевое значение калибратора были стандартизованы по in-house Standard. Использование других коммерческих калибраторов миоглобина не рекомендуется.

ПОДГОТОВКА

Реагенты: готовы к использованию.

Калибровочная кривая: Подготовьте следующие разведения калибратора миоглобина с физраствором (0,9 % NaCl). Умножьте концентрацию калибратора миоглобина на соответствующий коэффициент, приведенный в таблице ниже для получения концентрации IgE для каждого разведения.

Разведения калибратора	1	2	3	4	5
Стандарт (калибратор) (мкл)	100	50	25	12,5	–
0,9 % NaCl (мкл)	–	50	75	87,5	100
Коэффициент	1,0	0,5	0,25	0,125	0

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАКТИВОВ

Все компоненты набора стабильны вплоть до указанной даты (Exp. Date) при температуре 2-8°C в плотно закрытых флаконах и с соблюдением мер для предупреждения контаминации при использовании. Не используйте реагенты с истекшим сроком годности. Не замораживать реагенты, замороженные латексный реагент или буфер могут менять свои функциональные свойства.

Признаки порчи реагентов: Присутствие частиц или мутности.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

- Термостат (баня) на 37ºC.
- Спектрофотометр или биохимический анализатор с термостатом 37ºC и фильтром 570нм (560–580нм).

ПРОБЫ

Свежая сыворотка. Стабильность 7 дней при 2-8°C, при –20°C до 3 месяцев. Пробы сыворотки должны полностью свернуться и быть отцентрифугированными, не должны содержать видимых частиц или следов фибрина. Нельзя использовать гемолизированные или липемические пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Прогрейте рабочий реагент и прибор (измерительную ячейку) перед использованием до 37°C.
2. Условия измерения:
   Длина волны: 570 нм (560–580 нм)
   Температура 37°C
   Кювета: оптический путь 1 см
   Метод: по фиксированному времени по многоточечной калибровке,
   время задержки – 3с, время реакции – 300с.
3. Обнулите прибор по дистиллированной воде.

4. Пипетируйте в кювету:

	метод	полумикрометод	ChemWell
Стандарт (калибратор)	100 мкл	50 мкл	20 мкл
Проба	100 мкл	50 мкл	20 мкл
буфер (R1)	650 мкл	325 мкл	130 мкл
латекс (R2)	350 мкл	175 мкл	70 мкл

5. Перемешайте, измерьте абсорбцию немедленно при 570 нм против бланка по реагенту (A_1) и через 5 минут (A_2) после добавления пробы.

SPINREACT имеет инструкции для различных автоматических анализаторов. Инструкции для разных приборов доступны по запросу.

РАСЧЕТ

Рассчитайте для каждого стандарта и проб ΔA (A_2–A_1) и постройте на линейной миллиметровой бумаге калибровочный график зависимости между ΔA стандарта и его концентрацией или используйте соответствующую программу анализатора. Миоглобин в пробе определяется интерполяцией ее ΔA к калибровочной кривой.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля ручных и автоматизированных процедур выполнения теста рекомендуется использовать контрольную сыворотку. Контрольная сыворотка Spinreact Control миоглобин (код: 1107063).

Каждая лаборатория должна определять собственную систему ведения контроля качества и действий для коррекции при выходе контроля за приемлемые границы.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

До **65 нг/мл**. Каждая лаборатория должна определять собственный референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. ***Диапазон измерения*** *(линейность):* до 800 нг/мл для описанной процедуры. Пробы с большей концентрацией должны быть разведены в 5 раз физраствором (NaCl 9 г/л) и повторно тестированы, результат при этом умножается на 5. Диапазон линейности зависит от соотношения пробы и реагента. Он будет повышаться при уменьшении доли пробы, чувствительность теста при этом пропорционально снижается.
2. ***Уровень определения***: значения меньше 20 нг/мл дают не воспроизводимые результаты.
3. ***Эффект прозоны****:* не обнаруживается эффект прозоны до 24000 нг/мл.
4. ***Чувствительность****:* Δ 0.001 A. нг/мл.
5. ***Воспроизводимость****:*

	внутри серии тестов (n=10)		
Среднее (нг/мл)	48.6	86.2	323.5
SD	2.3	3.3	3.8
CV	4.63	3.87	1.17

6. ***Правильность***: результаты, полученные с помощью этого теста (y) были сравнены с другими, полученные с использованием коммерческих реагентов (x) с нефелометрическими методами. Были исследованы 37 проб двумя методами. Коэффициент корреляции (r) составил 0.994 и уравнение регрессии y= 1.520x + 2.076.

Результаты характеристик теста зависят также от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Гемоглобин (до 5 г/л), билирубин (до 60 мг/дл), триглицериды (до 15 г/л), липемия (15 г/л) и ревматоидные факторы (1000 МЕ/мл) не дают интерференции. Другие вещества могут оказывать влияние[5].

ПРИМЕЧАНИЯ

Клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, но должен все включать клинические и лабораторные данные.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Nemeth PM et al. J Histochem Cytochem 1984; 32: 1211-1216.
2. Isakov A et al. Arch Intern Med 1988; 148: 1762-1765.
3. Kallner A et al. Scand J Clin Invest 1989; 49: 633 – 639.
4. Singer JM et al. Amer J Med 1956; 21: 888
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995