

VIDAS® PTH (1-84) (PTH)**Zastosowanie**

VIDAS® PTH (1-84) (PTH) jest automatycznym testem ilościowym trzeciej generacji do stosowania na analizatorach z systemu VIDAS®. Służy do ilościowego pomiaru stężenia biologicznie aktywnego parathormonu PTH (1-84) w ludzkiej surowicy lub osoczu przy użyciu techniki ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Test w połączeniu z innymi wynikami badań laboratoryjnych i oceną stanu klinicznego pacjenta służy jako:

- - dodatkowe narzędzie w diagnostyce nadczynności i niedoczynności przytarczyc.
- - dodatkowe narzędzie w monitorowaniu homeostazy wapniowej u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek.

Wprowadzenie

Parathormon (PTH) to główny hormon biorący udział w homeostazie wapniowo-fosforanowej. PTH jest wytwarzany w gruczołach przytarczycznych (zasadniczo czterech, osadzonych na tylnej powierzchni tarczycy) i wydzielany jako peptyd złożony z 84 aminokwasów [1-84 według uniwersalnej konwencji numerycznej, począwszy od końca N] po obniżeniu stężenia pozakomórkowego wapnia.

Główną funkcją PTH jest utrzymanie poziomu zjonizowanego wapnia w wąskim zakresie za pomocą silnego efektu hiperkalcemicznego, poprzez stymulację uwalniania wapnia z kości i wchłanianie zwrotne w dystalnych kanalikach nerkowych, a także poprzez zwiększenie wytwarzania przez nerki 1,25-dihydroksywitaminy D-3 (kalcytriolu), która stymuluje wchłanianie wapnia w jelitach.

PTH zwiększa stężenie fosforanów w moczu i zmniejsza stężenie fosforanów w surowicy. PTH stymuluje przebudowę kości poprzez mobilizację osteoblastów, co uzasadnia stosowanie go w leczeniu osteoporozy w celu zmniejszenia ryzyka złamania kręgow.

Wydzielanie PTH jest pobudzane przez niskie stężenie wapnia i wysokie stężenie fosforanów, a hamowane przez wysokie stężenie wapnia i niskie stężenie fosforanów. Jest ono także hamowane przez kalcytriol, fragment PTH (7-84) i niedobór magnezu.

Czas połowicznego rozpadu PTH (1-84) w krwioobiegu nie przekracza 4 minut. PTH szybko ulega degradacji w wątrobie do fragmentów C-końcowych innych niż (1-84), zasadniczo (7-84) i (53-84) o długim okresie półtrwania, które są wydalone przez nerki. W przypadku niewydolności nerek fragmenty te gromadzą się we krwi.

Zaburzenia przytarczyc prowadzą do nadczynności (pierwotnej, wtórnej lub trzeciegrzędowej) lub niedoczynności przytarczyc. Oprócz łamliwości kości⁽¹⁾ oraz kamicy nerkowej, inne powiązane objawy mogą być niezbyt specyficzne, a bezobjawowa choroba przytarczyc może zostać wykryta nieoczekiwanie podczas rutynowego badania krwi⁽²⁾.

To badanie biologiczne ułatwia określenie statusu pacjenta pod względem funkcji przytarczyc (prawidłowa, nadczynność lub niedoczynność przytarczyc) w połączeniu z interpretacją innych parametrów biologicznych (takich jak stężenie wapnia, fosforanów czy witaminy D) i objawów klinicznych.

Pomiar stężenia PTH jest wskazany podczas wykonywania diagnostyki różnicowej pod kątem hiperkalcemii i hipokalcemii. Umożliwia on diagnostykę pierwotnej i wtórnej nadczynności przytarczyc⁽³⁾ oraz diagnostykę niedoczynności przytarczyc⁽⁴⁾, głównie po chirurgicznym usunięciu przytarczyc. Zleca się go także w przypadku pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, szczególnie do monitorowania pacjentów dializowanych⁽⁵⁾.

W przypadku niewydolności nerek nadzór medyczny jest prowadzony według zaleceń KDOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) i KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes)

W przypadku chorób innych niż choroby nerek pomiar stężenia PTH we krwi stanowi jeden z rutynowych testów biologicznych sprawdzanych przez specjalistę opieki zdrowotnej (na przykład w dziedzinie endokrynologii, reumatologii, geriatry czy chorób metabolicznych).

Zasada działania

Podstawą oznaczenia jest połączenie 2-etapowej immunoenzymatycznej metody kanapkowej z końcowym odczytem fluorescencji (ELFA). VIDAS® PTH (1-84) to test trzeciej generacji zgodny z rekombinowanym, międzynarodowym wzorcem parathormonu 1-84 WHO o kodzie 95/646.

Nośnik fazy stałej (pipetka SPR) jest przeznaczona do jednokrotnego użytku i służy jako nośnik fazy stałej oraz jako urządzenie pipetujące. Odczynniki potrzebne do wykonania badania są gotowe do użycia i umieszczone w szczelnie zamkniętych paskach testowych jednorazowego użytku.

Wszystkie etapy oznaczania są wykonywane automatycznie przez aparat. Medium reakcyjne jest cyklicznie podciągane i wypuszczane przez pipetkę SPR kilka razy.

Próbka została pobrana, a następnie rozcieńczona w odpowiednim rozcieńczalniku. Mieszanina jest cyklicznie pobierana do pipetki SPR i z niej wypuszczana. Operacja ta umożliwia związanie się PTH z przeciwciałami wychwytyjącymi, pokrywającymi wewnętrzną powierzchnię pipetki SPR. Niezwiązane składniki są eliminowane podczas etapów płukania.

Mieszanina próbki i koniugatu jest kilkakrotnie pobierana do pipetki SPR i z niej wypuszczana. Operacja ta umożliwia związanie się koniugatu z kompleksami immunologicznymi pokrywającymi wewnętrzną powierzchnię pipetki SPR i utworzenie „kanapki” (ang. sandwich). Niezwiązane składniki są eliminowane podczas etapów płukania.

Podczas ostatniego etapu oznaczenia do pipetki SPR wprowadzany jest i pobierany z niej substrat (fosforan 4-metylumbeliferylu). Enzym koniugatu katalizuje hydrolizę tego substratu do produktu fluorescencyjnego (4-metylumbeliferonu), którego fluorescencję mierzy się przy długości fali 450 nm. Intensywność fluorescencji jest proporcjonalna do stężenia PTH w próbce.

Na koniec oznaczenia wyniki obliczane są automatycznie i podawane w pg/ml przez aparat w odniesieniu do krzywej kalibracji przechowywanej w pamięci. Wyniki można następnie wydrukować.

Zawartość zestawu (30 testów)

30 pasków PTH ^(a)	STR	Gotowe do użycia.
30 nośników fazy stałej PTH 1 x 30	SPR	Gotowe do użycia. Wnętrze pipetki SPR jest opłaszczane mysimi monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko PTH (specyficznymi do fragmentu N-końcowego (1-6)).
Kalibrator PTH ^(b) 1 x 4,4 ml (roztwór)	S1	Gotowe do użycia. Bufor zawierający rekombinowany PTH (1-84) + stabilizator pochodzenia zwierzęcego + substancja konserwująca. Dane MLE (główne dane krzywej kalibracyjnej) wskazują dopuszczalny zakres wartości „Relative Fluorescence Value” (Względna wartość fluorescencji) („Calibrator (S1) RFV Range” (Zakres wartości RFV kalibratora S1)).
Kontrola PTH ^(b) 1 x 2,3 ml (roztwór)	C1	Gotowe do użycia. Bufor zawierający rekombinowany PTH (1-84) + stabilizator pochodzenia zwierzęcego + substancja konserwująca. Dane MLE określają dopuszczalny zakres dla kontroli w pg/ml („Control C1 Dose Value Range” (Zakres wartości dawki kontroli C1)).
Specyfikacje fabrycznych danych wzorcowych wymagane do skalibrowania testu: kod kreskowy MLE wydrukowany na etykiecie opakowania.		
1 ulotka informacyjna zawarta w opakowaniu lub do pobrania na stronie: www.biomerieux.com .		



(a) NIEBEZPIECZEŃSTWO
P305 + P351 + P338

UWAGA



EUH208 / H317 / H318 / P261 / P280 / P302 + P352 /



(b) UWAGA

EUH208 / H317 / P261 / P280 / P302 + P352

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia

EUH208: Zawiera 2-metylo-2H-izotiazolin-3-one. Może powodować reakcję alergiczną.

H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry.

H318: Powoduje poważne urazy oczu.

Zwroty wskazujące środki ostrożności

P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.

P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P302 + P352: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ NA SKÓRĘ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.

Więcej informacji zawiera karta charakterystyki substancji niebezpiecznej.

Pipetka SPR

Wnętrze pipetki SPR podczas procesu produkcyjnego jest opłaszczane mysimi monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko fragmentowi N-końcowemu PTH (1-6). Każda pipetka SPR jest oznaczona kodem „PTH”.

Z torebki należy wyjmować tylko potrzebną liczbę pipetek SPR, a potem ją dokładnie zamknąć.

Pasek testowy

Pasek składa się z 10 studzienek zakrytych folią opatrzoną etykietą. Etykieta naklejona na folii zawiera kod kreskowy, który określa typ wykonywanego oznaczenia, numer serii i datę ważności testu. Dla ułatwienia wprowadzenia próbki folia zakrywająca pierwszą studzienkę jest perforowana. W każdym pasku ostatnia studzienka jest kuwetą pomiarową, w której mierzona jest fluorescencja. Studzienki w centralnej części paska zawierają odczynniki potrzebne do wykonania badania.

Opis paska testowego VIDAS® PTH (1-84) (PTH)

Studzienki	Odczynniki
1	Studzienka na próbkę: odpipetować 300 µl kalibratora, kontroli lub próbki.
2	Rozcieńczalnik próbki: bufor + stabilizator białek pochodzenia zwierzęcego + środek konserwujący (300 µl).
3	Pusta studzienka.
4 - 5	Bufory płuczące: bufor + środek konserwujący (600 µl).
6	Koniugat: bufor zawierający przeciwciała anty-PTH (7-85) + stabilizator pochodzenia zwierzęcego + środek konserwujący (400 µl).
7 - 8	Bufory płuczące: bufor + środek konserwujący (600 µl).
9	Pusta studzienka.
10	Kuweta pomiarowa z substratem: fosforan 4-metyloumbeliferylu (0,6 mmol/l) + dietanoloamina (DEA) (0,62 mol/l lub 6,6% pH 9,2) + 1 g/l azydru sodu (300 µl).

Wyposażenie oraz materiały jednorazowe wymagane, lecz niewchodzące w skład zestawu.

- Pipeta z jednorazowymi końcówkami i/lub mikropipety do odmierzenia odpowiednich objętości.
- Rękawiczki jednorazowe bez talku.
- Informacje o innych wymaganych materiałach znajdują się w Instrukcji obsługi aparatu.
- Aparaty z rodziny VIDAS®.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Wyłącznie do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Wyłącznie do zastosowania profesjonalnego przez wykwalifikowany personel w laboratoriach klinicznych.
- Zestaw nie zawiera produktów pochodzenia ludzkiego.

- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadczenie pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego z produktem należy obchodzić się zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pacjentów należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny i należy przestrzegać rutynowych zasad bezpieczeństwa.
- Mimo że białka rekombinowane PTH (1-84) obecne w kalibratorze S1 i kontroli C1 są nieaktywne, należy traktować te odczynniki jako produkty potencjalnie zakaźne.
- Nie używać pipetek SPR, jeśli torebka jest przedziurawiona lub jeśli odkleiła się folia zamykająca pipetkę SPR.
- Nie używać widocznie uszkodzonych pasków STR (zniszczona folia albo plastik).
- Nie używać odczynników po upływie terminu ważności, który jest podany na etykiecie opakowania.
- Nie mieszać odczynników (ani materiałów jednorazowych) z różnych serii.
- Testy VIDAS® PTH (1-84) są przeznaczone do użytku wyłącznie na analizatorach z systemu VIDAS®.
- Używać rękawiczek bez talku, ponieważ talk może wpływać na poprawność wyników w przypadku pewnych oznaczeń immunoenzymatycznych.
- Zestaw odczynników zawiera azydek sodu, który może reagować z ołowiem lub miedzią, prowadząc do tworzenia wybuchowych azydków metali. Jeżeli jakiegokolwiek roztwór zawierający azydek sodu jest usuwany do kanalizacji, odpływy powinny zostać przepłukane wodą w celu uniknięcia niekorzystnego wpływu na armaturę.
- Patrz powyższe zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia „H” oraz zwroty wskazujące środki ostrożności „P”.
- Zabrudzenia aparatu powinny być dokładnie wycierane przy użyciu detergentu w płynie lub roztworu wybielacza używanego w gospodarstwach domowych, zawierającego przynajmniej 0,5% podchlorynu sodu. Patrz Instrukcja obsługi aparatu, sekcja opisująca czyszczenie plam na i w aparacie. Nie wolno sterylizować w autoklawie roztworów zawierających wybielacz.
- Aparat wymaga regularnego czyszczenia i odkażania (instrukcje dotyczące działań zapobiegawczych i konserwacyjnych zawiera Instrukcja obsługi aparatu).

Warunki przechowywania

- Zestaw VIDAS® PTH (1-84) należy przechowywać w temperaturze +2°/+8°C.
- **Nie zamrażać odczynników.**
- **Wszystkie nieużyte odczynniki należy przechowywać w temperaturze +2°C/+8°C.**
- Po otwarciu zestawu należy sprawdzić, czy torebka SPR jest prawidłowo zapieczętowana i nieuszkodzona. Jeżeli tak nie jest, nie należy używać takich pipetek SPR.
- **W celu zachowania stabilności pozostałych pipetek SPR należy po użyciu dokładnie zamknąć torebkę z osuszaczem w środku i ponownie umieścić cały zestaw w temperaturze +2°C/+8°C.**
- Przechowywanie w zalecanych warunkach gwarantuje stabilność wszystkich składników do terminu ważności podanego na etykiecie opakowania.

Próbki

Rodzaje próbek i ich pobieranie

Ludzka surowica lub osocze.

Zatwierdzone rodzaje probówek:

- probówka plastikowa z aktywatorem krzepnięcia,
- Probówka plastikowa z aktywatorem krzepnięcia i żelem rozdzielającym
- probówka plastikowa z heparyną litową,
- probówka plastikowa z EDTA.

Zaleca się, aby każde laboratorium zatwierdziło typ używanych probówek, ponieważ niektóre z nich mogą zawierać substancje, które zakłócają wyniki badań.

Uwaga: Wyniki mogą różnić się w zależności od producenta probówek do pobierania krwi oraz użytych materiałów i dodatków.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest zwalidowanie używanych typów probówek i postępowanie zgodnie z zaleceniami ich producenta

Przygotowanie próbek

Bieżąca wersja dokumentu WHO/DIL/LAB/99.1 zawiera zalecenia dotyczące przygotowania próbek. ⁽⁶⁾

Probówki na próbki powinny być używane zgodnie z zaleceniami dostarczanymi przez ich producenta.

Etap przedanalizyczny, w tym przygotowanie próbek krwi, jest istotnym pierwszym krokiem podczas wykonywania analiz medycznych. Zgodnie dobrą praktyką laboratoryjną odpowiedzialność za poprawność niniejszego etapu spoczywa na kierowniku laboratorium.

Niedostateczny czas wykrzepiania może skutkować wytworzeniem fibryny z mikroskrzepami niewidocznymi gołym okiem. Obecność fibryny, krwinek czerwonych lub zawieszonych cząstek może spowodować uzyskanie błędnych wyników.

Próbki zawierające zawieszone cząsteczki lub zrąb z erytrocytów należy odwirować przed oznaczeniem.

W przypadku próbek surowicy przed odwirowaniem należy sprawdzić, czy nastąpiło pełne utworzenie skrzepu.

W przypadku niektórych próbek, szczególnie tych pochodzących od pacjentów przyjmujących antykoagulanty czy leki trombolityczne, czasy wykrzepiania mogą być dłuższe.

Stabilność próbek

Próbki (surowica i osocze) można przechowywać w zamkniętych probówkach pierwotnych przez maksymalnie 8 godzin w temperaturze +18°C/+25°C lub maksymalnie 48 godzin w temperaturze +2°C/+8°C. Jeżeli konieczne jest dłuższe przechowywanie, należy zamrozić surowicę lub osocze w temperaturze -19°C/-31°C.

Badanie próbek zamrożonych przez 6 miesięcy w temperaturze -19°C/-31°C wykazało, że zamrożenie nie miało wpływu na wynik badania. Dopuszczalne są trzy cykle zamrażania/rozmarzania.

Interferencje dotyczące próbek

Ustalono, że żaden z poniższych czynników nie ma istotnego wpływu na niniejsze oznaczenie:

- hemoliza (po dodaniu znanej ilości hemoglobiny: do 5 g/l (monomer)),
- lipemia (po dodaniu znanej ilości lipidów: do 30 g/l w przeliczeniu na triglicerydy),
- bilirubinemia (po dodaniu znanej ilości bilirubiny: do 0,3 g/l).

Nie zaleca się używania do badań próbek zhemolizowanych, lipemicznych, żółtaczkowych. W miarę możliwości należy pobrać nową próbkę.

Składniki poddane testom pod kątem zakłóceń przedstawiono w części **WIARYGODNOŚĆ TESTU — badanie interferencji ze strony leków oraz innych substancji potencjalnie zakłócających**.

Instrukcja użytkowania

Pełne informacje zawarte są w Instrukcji obsługi aparatu.

Odczytywanie danych VIDAS® PTC (Protocol Test Change) i danych MLE

Przed rozpoczęciem pracy z testem:

Za pomocą zewnętrznego czytnika kodów kreskowych **zeskanować kody kreskowe (PTC i MLE) w następującej kolejności:**

1. W zależności od rodzaju używanego aparatu zeskanować odpowiednie kody kreskowe PTC, które można pobrać ze strony www.biomerieux.com. Odczyt ten umożliwi systemowi VIDAS® przesłanie danych protokołu PTC do oprogramowania aparatu w celu aktualizacji.
2. Zeskanować kod MLE znajdujący się na etykiecie opakowania.

Przed rozpoczęciem pracy z nową serią testu:

Przed wykonaniem badań za pomocą zewnętrznego czytnika kodów kreskowych zeskanować kod MLE znajdujący się na etykiecie opakowania.

Uwaga: dane krzywej kalibracyjnej należy wprowadzić do pamięci aparatu tylko raz dla danej serii odczynników

Dane MLE można wprowadzać **ręcznie lub automatycznie**, w zależności od aparatu (patrz Instrukcja obsługi).

Kalibracja

Kalibrator jest zgodny ze standardem międzynarodowym WHO 95/646 dla PTH (1-84).⁽⁷⁾

Kalibrację przy użyciu kalibratora dołączonego do zestawu należy wykonywać po otwarciu każdej nowej serii odczynników, po wprowadzeniu danych MLE oraz co **84 dni**. Dzięki tej operacji uzyskuje się krzywe kalibracyjne specyficzne dla danego urządzenia, operacja ta również kompensuje możliwe niewielkie odchylenia w sygnale oznaczenia aż do upływu daty ważności zestawu.

Kalibrator, oznaczony jako S1, powinien zostać zbadany w **dwóch** powtórzeniach (patrz podręcznik obsługi). Wartość RFV kalibratora (względna wartość fluorescencji) musi zawierać się w wyznaczonym zakresie. Jeżeli tak nie jest, należy ponownie wykonać kalibrację z użyciem kalibratora S1.

Przestroga: Kalibrator (S1) i kontrola (C1) to płynne gotowe do użycia odczynniki. Podczas pipetowania porcji 300 µl kalibratora i kontroli należy upewnić się, że cała objętość 300 µl została wypuszczona z końcówki pipety.

Kontrole zestawu

W każdym zestawie VIDAS® PTH (1-84) (PTH) znajduje się jedna kontrola. Kontrola musi być wykonana od razu po otwarciu nowego zestawu w celu upewnienia się, że działanie odczynników jest prawidłowe.

Każda kalibracja musi być także zatwierdzona przy użyciu tej kontroli. Aparat będzie w stanie sprawdzić wartość kontroli tylko wtedy, gdy będzie ona oznaczona jako C1.

Wyniki pacjentów nie mogą zostać zatwierdzone, jeżeli wartość kontroli nie mieści się w oczekiwanym zakresie.

Uwaga: Kontrola jakości (C1) zestawu VIDAS® PTH (1-84) służy do walidacji kalibracji. Odpowiedzialność za użycie kontroli jakości (C1) zestawu VIDAS® PTH (1-84) jako wewnętrznej kontroli jakości ponosi klient.

Procedura:

1. **Wyjąć zestaw z miejsca przechowywania w temperaturze +2 °C/+8 °C i wyjąć z opakowania potrzebne odczynniki. Torebkę z pipetkami SPR należy ponownie dokładnie zamknąć i umieścić zestaw z powrotem w temperaturze +2°C/+8°C. Odczynniki mogą zostać użyte od razu po wyjęciu.**
2. Użyć jednego paska testowego „PTH” i jednej pipetki SPR „PTH” do każdej próbki, kontroli lub kalibratora, które będą badane. Po wyjęciu odpowiedniej liczby nośników fazy stałej (pipetek SPR) należy starannie zamknąć torebkę.
3. Test oznaczony jest na aparacie kodem „PTH” (należy zapoznać się z podręcznikiem użytkownika aparatu). Kalibrator musi być oznaczony jako „S1” i badany w dwóch powtórzeniach. Kontrola oznaczona jako „C1” musi być badana jednokrotnie.
4. Wymieszać kalibratory, kontrole i próbki przy użyciu mieszadła typu vortex (dotyczy surowicy lub osocza oddzielonego od osadu).
5. W celu otrzymania optymalnych wyników należy zapoznać się z informacjami w części **PRÓBK**I.
6. Przed pipetowaniem upewnić się, że próbki, kalibrator, kontrola i rozcieńczalnik nie zawierają pęcherzyków powietrza.
7. **W przypadku tego testu objętość badanego kalibratora, kontroli oraz próbki wynosi 300 µl.**
8. Umieścić pipetki SPR „PTH” i paski testowe „PTH” w urządzeniu. Sprawdzić, czy kolorowe etykiety z kodem oznaczenia na pipetkach SPR i na paskach odczynnikowych są takie same.
9. Rozpocząć analizę zgodnie z Instrukcją obsługi. Wszystkie etapy oznaczenia są automatycznie wykonywane przez aparat.
10. Po zakończeniu pipetowania zamknąć fiolki korkiem i przechowywać w wymaganej temperaturze.
11. Badanie zostanie wykonane w ciągu około **24 minut**. Po zakończeniu oznaczenia wyjąć nośniki fazy stałej (pipetki SPR) i paski testowe z aparatu.
12. Wyrzucić zużyte nośniki fazy stałej (pipetki SPR) i paski testowe do odpowiedniego pojemnika.

Kontrola jakości

Dodatkowe kontrole jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi przepisami prawnymi lub wymogami związanymi z certyfikacją, a także wymaganiami zdefiniowanymi w ramach procedury kontroli jakości obowiązującej w laboratorium.

Uwaga: Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości zgodnie z lokalnymi uregulowaniami.

Wyniki i interpretacja

Po zakończeniu analizy komputer automatycznie analizuje wyniki. Odczyt fluorescencji w kuwecie pomiarowej każdego paska testowego jest wykonywany dwukrotnie. Pierwszy odczyt dotyczy tła kuwety z substratem, zanim do substratu zostanie wprowadzona pipetka SPR.

Drugi odczyt następuje po inkubacji substratu z enzymem związanym z wewnętrzną powierzchnią pipetki SPR. Względna wartość fluorescencji (Relative Fluorescence Value, RFV) obliczana jest jako różnica wartości końcowej i tła. Obliczenie to pojawia się na końcowym wydruku.

Wyniki są automatycznie przeliczane przez aparat w oparciu o zapisane w pamięci krzywe kalibracyjne (zgodnie z określonym modelem matematycznym), a następnie wyrażane w pg/ml.

Interpretacja wyniku testu powinna być prowadzona z uwzględnieniem historii choroby pacjenta i wyników innych badań.

Aparat wyświetla wyniki testu VIDAS® PTH (1-84) (PTH) w zakresie od 4,0 to 1500,0 pg/ml.

Rozcieńczenie próbek

Aby uzyskać wynik w zakresie pomiarowym, próbki z wynikiem oznaczenia VIDAS® PTH (1-84) przekraczającym 1500,0 pg/ml należy ponownie przetestować po rozcieńczeniu w soli fizjologicznej w stosunku 1/2 (współczynnik rozcieńczenia = 2) (1 objętość próbki + 1 objętość soli fizjologicznej).

Rozcieńczenie należy wykonać ręcznie w aparatach VIDAS®, MINI VIDAS® i VIDAS® 3.

Jeśli współczynnik rozcieńczenia (= 2) wprowadzono podczas tworzenia listy roboczej, wynik będzie przeliczony automatycznie przez aparat. Jeśli nie wprowadzono współczynnika rozcieńczenia, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia, aby uzyskać stężenie analitu w próbce.

Ograniczenia metody

- Interferencje mogą występować w przypadku niektórych surowic zawierających przeciwciała skierowane przeciwko składnikom odczynników. Z tego powodu wyniki oznaczenia należy interpretować, biorąc pod uwagę historię choroby pacjenta oraz wyniki innych przeprowadzonych badań.
- Składniki poddane testom pod kątem zakłóceń przedstawiono w części **WIARYGODNOŚĆ TESTU — badanie interferencji ze strony leków oraz innych substancji potencjalnie zakłócających**.
- Wszelkie wyniki, które nie pasują do historii choroby pacjenta, mogą wynikać z nieprawidłowej konserwacji aparatu (patrz Instrukcja obsługi).

Wartości referencyjne

Przedstawione wyniki stanowią przykład. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swoje własne zakresy wartości referencyjnych na podstawie starannie wyselekcjonowanej populacji.

Wartości referencyjne zostały wyznaczone w badaniu klinicznym z użyciem 491 próbek od pacjentów ogólnie zdrowych. Populację podzielono na 3 grupy w zależności od poziomu witaminy D. Dla każdej grupy określono 95-procentowy referencyjny zakres wartości (inaczej przedział referencyjny, zgodnie z wytycznymi CLSI EP28-A3c), a także dla całej grupy osób ogólnie zdrowych, zgodnie z poniższym opisem:

	N	Mediana (w pg/ml)	Przedział referencyjny PTH (1-84) (w pg/ml)	90% CI* dolnej referencyjnej wartości granicznej (w pg/ml)	90% CI górnej referencyjnej wartości granicznej (w pg/ml)
Zdrowa populacja	491	20,8	9,2 - 44,6	[8,7 ; 9,7]	[42,5 ; 46,7]
Zdrowa populacja według poziomu witaminy D	N	Mediana (w pg/ml)	Przedział referencyjny PTH (1-84) (w pg/ml)	90% CI dolnej referencyjnej wartości granicznej (w pg/ml)	90% CI górnej referencyjnej wartości granicznej (w pg/ml)
Niedobór ≤ 20 ng/ml	176	21,5	8,9 - 45,3	[8,0 ; 9,9]	[42,1 ; 48,8]
Niewystarczający > 20 i < 30 ng/ml	213	20,7	8,8 - 47,8	[7,6 ; 9,9]	[41,6 ; 57,3]
Poziom prawidłowy ≥ 30 ng/ml	102	21,3	9,6 - 47,3	[8,7 ; 10,6]	[41,6 ; 54,1]

* CI: przedział ufności.

Zgodnie z wytycznymi KDIGO stężenie PTH u pacjentów dializowanych powinno być utrzymywane na poziomie od dwóch do dziesięciu razy wyższym niż górna granica normy

Wiarygodność

Badania przeprowadzone przy użyciu testu VIDAS® PTH (1-84) (PTH) dały poniższe wyniki.

Zakres pomiarowy

Zakres pomiarowy (lub analityczny przedział pomiarowy, zgodnie z wytycznymi CLSI EP36-Ed1) jest to zakres wartości odpowiadając dopuszczalnym granicom wydajności (precyzji i liniowości).

Zakres pomiarowy testu VIDAS® PTH (1-84) (PTH) wynosi od 4,0 do 1500,0 pg/ml.

Liniowość

Liniowość oceniono zgodnie z zaleceniami CLSI EP06-A. Test VIDAS® PTH (1-84) jest liniowy między 4,0 a 1500,0 pg/ml.

Granica wykrywalności

Wartość próby ślepej (LoB)	0,8 pg/ml
Granica wykrywalności (LoD)	2,2 pg/ml
Granica oznaczalności (LoQ)	4,0 pg/ml

Wartość próby ślepej, granica wykrywalności i granica oznaczalności wyznaczono na podstawie zaleceń CLSI EP17-A2.

Granica próby ślepej (LoB) to stężenie, poniżej którego znajduje się 95% próbek wolnych od analitu

Granica wykrywalności (LoD) to najniższe stężenie analitu w próbce, które może być odróżnione od próbki niezawierającej analitu z prawdopodobieństwem 95% (zaobserwowany wynik jest z 95% prawdopodobieństwem wyższy niż LoB).

Granica oznaczalności (LoQ) to najniższe stężenie analitu, które może zostać oznaczone i zmierzone ilościowo z dopuszczalnym poziomem precyzji. Drukowane są wszystkie wyniki poniżej 4,0 pg/ml \leq 4,0 pg/ml. Dla testu VIDAS® PTH (1-84) dopuszczalny poziom precyzji odpowiada stosowanemu w ramach serii poziomowi precyzji wynoszącemu 20% CV.

Effekt dużej dawki (Hook effect)

W teście wykorzystano 2-etapową immunoenzymatyczną metodę kanapkową. Effekt dużej dawki (Hook effect) można zatem celowo pominąć.

Precyzja

Badanie precyzji przeprowadzono zgodnie z zaleceniami CLSI EP05-A3. Panel próbek pochodzenia ludzkiego zawierający 6 poziomów stężenia w przedziale pomiarowym przetestowano na aparacie VIDAS® w taki sposób, aby uwzględnić następujące główne źródła zmienności: powtarzalność, cykl, dzień, kalibrację i serię.

Powtarzalność (precyzję wewnątrz cyklu), precyzję pośrednią (łącznie w ramach serii) oraz precyzję wewnątrzlaboratoryjną (między seriami na jednym aparacie) oszacowano dla każdej próbki. Uzyskane wartości podano w poniższej tabeli jako przykład

Próbka	Stężenie (pg/ml)	Powtarzalność		Precyzja pośrednia		Wewnątrz laboratorium	
		Odchylenie standardowe (pg/ml)	CV (%)	Odchylenie standardowe (pg/ml)	CV (%)	Odchylenie standardowe (pg/ml)	CV (%)
Próbka 1	14,7	0,9	6,0	1,1	7,3	1,2	7,9
Próbka 2	46,3	2,8	6,1	3,0	6,5	5,7	12,4
Próbka 3	106,7	4,0	3,8	5,1	4,8	5,6	5,2
Próbka 4	299,0	10,3	3,4	13,1	4,4	16,2	5,4
Próbka 5	590,0	15,3	2,6	25,4	4,3	30,7	5,2
Próbka 6	1130,1	42,5	3,8	51,1	4,5	62,4	5,5

Wyniki te wskazują możliwość monitorowania pacjentów z przewlekłą chorobą nerek w trybie rutynowym.

Swoistość analityczna

Specyficzność analityczną testu VIDAS® PTH (1-84) (84) wyznaczono, badając związki reaktywne krzyżowo zgodnie z zaleceniami określonymi w dokumencie CLSI EP7-A2. Reaktywność krzyżową oceniono, dodając związki reaktywne krzyżowo do próbek surowicy (około 50 pg/ml i około 400 pg/ml PTH).

Wyniki tego badania podano w poniższej tabeli.

Badane substancje	Badane stężenie (pg/ml)	Reaktywność krzyżowa (%)
PTH (7-84)	100 000	0,11%

Badane substancje	Badane stężenie (pg/ml)	Reaktywność krzyżowa (%)
PTH (1-34)	100 000	0,04%
PTH (13-34)	100 000	0,0004%
PTH (39-68)	100 000	0,0004%
PTH (44-68)	100 000	0,009%
PTH (39-84)	100 000	0,002%
PTH (53-84)	100 000	0,006%
Kalcytonina	100 000	0,005%
Osteokalcyna	100 000	0,014%
C-telopeptyd	100 000	0,023%

Badanie interferencji ze strony leków oraz innych substancji potencjalnie zakłócających

Potencjalne interferencje powodowane przez powszechnie używane leki i inne substancje zbadano zgodnie z zaleceniami CLSI EP7-A2. Nie wykryto żadnych znaczących interferencji aż do maksymalnych zbadanych stężeń.

Badany lek	Maksymalne stężenia	Badany lek	Maksymalne stężenia
Acetaminofen	35 mg/dl	Etidronian	105 mg/dl
Kwas acetylosalicylowy	65 mg/dl	Ibuprofen	50 mg/dl (242,5 µmol/dl)
Alendronian	8 mg/dl	Chlorek lantanu	40 mg/dl
Alfakalcydol	2,5 µg/ml	Chlorek magnezu	40 mg/dl
Siarczan glinu	40 mg/dl	Pamidronian	18 mg/dl
Biotyna	2 µg/ml	Risedronian	6 mg/dl
Kalcytriol	1 ng/ml	Kwas salicylowy	60 mg/dl
Octan wapnia	40 mg/dl	Witamina D2	1800 ng/ml
Cytrynian wapnia	40 mg/dl	Witamina D3	240 ng/ml

Badane substancje	Maksymalne stężenia
Bilirubina (niezwiązana)	0,3 g/l (510 µmol/l)
Cholesterol	4,21 g/l
Hemoglobina	5 g/l (310 µmol/l)
Ludzka albumina	60 g/l
Ludzkie przeciwciała antymysie (HAMA)	2 µg/ml
Lipidy (intralipidy)	30 g/l
Czynnik reumatoidalny	800 IU/ml

Porównanie metod

Badania porównawcze przeprowadzano zgodnie z zaleceniami CLSI EP09-A3.

Testem VIDAS® PTH (1-84) (PTH) przebadano wszystkie docelowe populacje mieszczące się w zakresie pomiarowym od 4,0 do 1500,0 pg/ml. Wśród 215 wytypowanych pacjentów reprezentowane były populacje z następującymi stanami klinicznymi:

- Gruczołak
- Choroby kości
- Pacjenci dializowani
- Hiperkalcemia PTH-niezależna
- Usunięcie przytarczyc
- Niewydolność nerek 3. stopnia
- Niewydolność nerek 4. stopnia
- Niewydolność nerek 5. stopnia
- Po transplantacji nerek
- Osoby ogólnie zdrowe, u których 20 < poziom witaminy D < 30 ng/ml
- Osoby ogólnie zdrowe, u których poziom witaminy D ≥ 30 ng/ml

Badanie porównawcze testu VIDAS® PTH (1-84) (Y) z innym dostępnym na rynku testem immunologicznym PTH (1-84) (X) dało następujące wyniki:

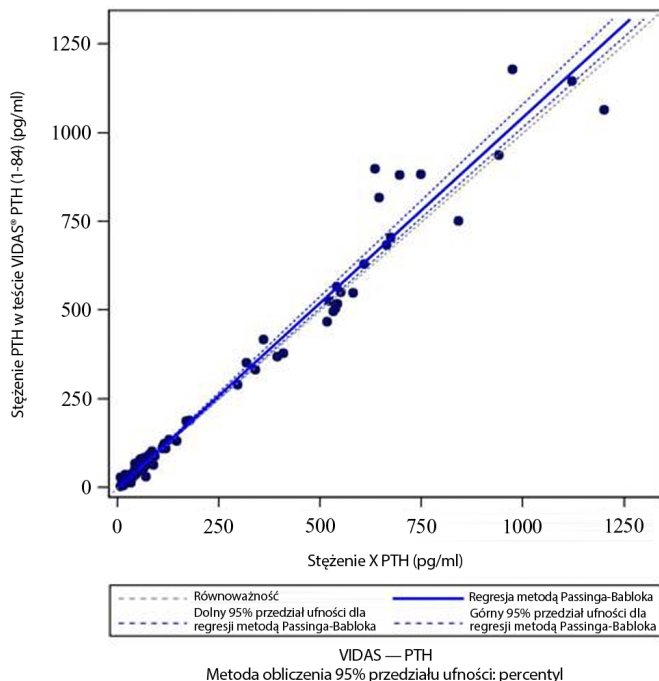
Liczba przetestowanych próbek: 215

Testem VIDAS® PTH przebadano próbki w zakresie od 4,1 pg/ml do 1179,4 pg/ml.

Innym dostępnym na rynku testem przebadano próbki w zakresie od 6,68 pg/ml do 1200,00 pg/ml.

Równanie regresji Passinga i Babloka: $Y = 1,0460 X - 2,2489$

Współczynnik korelacji: 0,9889



Monitorowanie wydajności

Łącznie wytypowano 21 pacjentów w 3 różnych punktach czasowych. Podsumowując, zebrano łącznie 63 próbki i zbadano je za pomocą testu VIDAS® PTH (1-84) (PTH) (Y) i innego dostępnego na rynku testu immunologicznego PTH (1-84) (X).

Zgodnie z wytycznymi KDIGO stężenie PTH u pacjentów dializowanych powinno być utrzymywane na poziomie od dwóch do dziewięciu razy wyższym niż górna granica normy. Dla informacji, najwyższa wartość referencyjna ustalona w badaniu klinicznym wynosiła 44,6 pg/ml, co oznacza zakres wartości stężenia PTH od 89,2 do 401,4 pg/ml. Odpowiedniość zdefiniowano jako zgodną interpretację pomiędzy obiema metodami.

Obliczono ogólną (łącznie wszystkie osoby i punkty w czasie) częstotliwość i odsetek zgodnych interpretacji pomiędzy 2 oznaczeniami względem kryterium KDIGO.

Kryteria	Zgodność w %
Zgodna interpretacja między 2 oznaczeniami względem kryterium KDIGO	88,89 %

Utylizacja odpadów










Składowanie wszystkich zużytych i nieużytych składników i innych skażonych materiałów należy przeprowadzać zgodnie z procedurą dotyczącą produktów potencjalnie zakaźnych.

Za obchodzenie się i składowanie wytworzonych odpadów oraz ścieków odpowiedzialne jest laboratorium, które musi traktować je i składować (lub powierzyć do składowania) stosownie do stopnia ich niebezpieczeństwa oraz zgodnie z odpowiednimi regulacjami prawnymi.

Literatura

1. Camacho PM *et al.* – American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis - 2016. – *Endocrine Practice* – 2016 September; 22 (Suppl 4): 1-42.
2. Khan AA *et al.* – Primary hyperparathyroidism: review and recommendations on evaluation, diagnosis, and management. A Canadian and international consensus. – *Osteoporos Int.* – 2017; 28: 1-19.
3. Wilhelm SM *et al.* – The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for Definitive Management of Primary Hyperparathyroidism. – *JAMA Surg.* – 2016 Oct; 151 (10): 959-68.
4. Bollerslev J *et al.* – European Society of Endocrinology Clinical Guideline: Treatment of chronic hypoparathyroidism in adults. – *European Journal of Endocrinology* – 2015; 173, G1-20.
5. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). – *Kidney International Supplements* – 2017 July; 7 (1): 1-59.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION, USE OF ANTICOAGULANTS IN DIAGNOSTIC, LABORATORY INVESTIGATIONS, 2002, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Parathyroid Hormone 1-84, human, recombinant (1st International Standard) - WHO_BS_09.2115.

Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki in vitro
	Wytwórca
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji użycia.
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Data produkcji

Ograniczona gwarancja

Firma bioMérieux gwarantuje poprawne działanie produktu zgodnie z jego wskazanym zastosowaniem, pod warunkiem ścisłego przestrzegania wszelkich procedur użycia, przechowywania i obsługi, czasu przydatności do użycia (jeśli dotyczy) oraz środków ostrożności opisanych w instrukcji użycia (IFU).

Z wyjątkiem wyraźnie określonej gwarancji, wskazanej powyżej, firma bioMérieux niniejszym wyłącza wszelkie gwarancje, w tym wszelkie domniemane gwarancje przydatności handlowej i przydatności do określonego celu lub zastosowania, oraz wyłącza wszelką odpowiedzialność, bezpośrednią, pośrednią lub wynikową, za jakiegokolwiek użycie odczynnika, oprogramowania, urządzenia i materiałów eksploatacyjnych („System”) w sposób inny niż wskazano w instrukcji użycia (IFU).

Historia zmian

Kategorie typów zmian

nd.	Nie dotyczy (pierwsze wydanie)
Poprawka	Poprawka nieprawidłowości w dokumentacji
Zmiana techniczna	Uzupełnienie, korekta i/lub usunięcie informacji dotyczących produktu
Zmiana administracyjna	Wdrożenie zmian innych niż techniczne, istotnych dla użytkownika

Uwaga: Historia zmian nie zawiera drobnych zmian graficznych, gramatycznych oraz dotyczących formatowania.

Data wydania	Numer partii	Typ zmiany	Podsumowanie zmiany
2018-10	050049-01	Nd.	Nie dotyczy (pierwsze wydanie)
2018-12	050049-02	Poprawka	WIARYGODNOŚĆ — Porównanie metod
2019-11	050049-03	Zmiana techniczna	Zawartość zestawu (30 testów) / Ostrzeżenia i środki ostrożności
2022-02	050049-04	Zmiana techniczna	Wyposażenie oraz materiały jednorazowe wymagane, lecz niewchodzące w skład zestawu.

BIOMERIEUX, logo BIOMERIEUX, SPR oraz VIDAS są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.

CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Jakiegolwiek inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.