|  |
| --- |
| **Набор реагентов Skyla** **cCOR (Кортизол у собак)**  |
| **Только для использования в ветеринарной диагностике**  |  **Артикул: 901-150 Версия D** |

1. **Назначение**

Набор реагентов skyla cCOR, используемый с анализатором Skyla, предназначен для количественного определения содержания кортизола (COR) у собак в плазме и сыворотке крови.

**Предупреждение:**

1. Продукция предназначена только для использования в *in vitro* диагностике.
2. Продукция не должна использоваться для индивидуальных диагностических целей.
3. Набор реагентов следует хранить при температуре 2 - 8°C.
4. При выполнении теста надевайте защитные перчатки.
5. Никакая часть набора не может быть использована повторно.
6. Утилизация отходов должна производиться в соответствии со стандартными лабораторными процедурами и требованиями местного законодательства.
7. **Состав набора**

Набор skyla для исследования cCOR состоит из аналитического картриджа с реагентами, так называемого картриджа Е-типа.



**Картридж Е-типа**

**3. Основные сведения**

Набор skyla для исследования cCOR основан на конкурентном иммуноферментном методе с использованием антител кортизола, помеченного пероксидазой хрена (HRP), к кортизолу у собак, позволяющего точно определить концентрацию cCOR в пробе.

При смешении пробы с кортизолом, помеченным пероксидазой хрена, запускается конкурентная реакция с кортизолом пробы по связыванию с моноклональными антителами, иммобилизованными на полистирольных сферах. Несвязанный конъюгат пробы и фермента затем удаляют промывкой буферным раствором. В конечной стадии добавляется субстрат, реагирующий с ферментом HRP, и интенсивность окраски этой реакции обратно пропорциональна концентрации фермента.

 ***Клиническая значимость*:**

COR представляет собой типичный гликокортезоидный гормон, продуцируемый корковым слоем надпочечников посредством активации адренокортикотропного гормона (АСТН). Он синтезируется из холестерина через 17α-гидроксипрогестерон и участвует во многих основных реакциях метаболизма. Уровень COR в плазме достигает максимума утром и постепенно уменьшается примерно вдвое к вечеру. Беременность или лечение эстрогенными средствами существенно повышает уровень кортизола. С другой стороны, сильный стресс также может привести к росту выработки кортизола.

Поскольку выработка COR контролируется через механизм обратной связи между гипоталамусом - гипофизом - корковым слоем надпочечников, измерения уровня кортизола используются для непосредственного мониторинга состояния надпочечников и для косвенного определения гипер- или гипофункции гипофиза. Повышенный уровень кортизола может быть связан с опухолями надпочечников, гипофиза или опухолями, вызванными эктопическим АКТГ-синдромом. Пониженные концентрации COR могут указывать на недостаточность функции надпочечников или на наличие дефекта в путях метаболизма биосинтеза кортизола.

1. **Реагенты**

***Основной состав*:**

R1 (энзимный конъюгат): 35 мкл

– COR, помеченный HRP, в фосфатном буферном физиологическом растворе (PBS) с рН 7,4, содержащем 138 ммоль/л NaCl и 2,7 ммоль/л KCl.

R2: (промывочный буфер): 115 мкл

– Трис-буферный физиологический раствор с Tween 20 (TBST) с рН 7,4, содержащий 20 ммоль/л Tris, 150 ммоль/л NaCl и 0,1% Tween 20.

R3: (субстрат): 70 мкл

-TMB (3,3’,5, 5’-тетраметилбензидин) с рН 3.6.

Сферы (твердая фаза): 1 РС

- Полистирольные сферы с моноклональными антителами к cCOR.

***Хранение реагентов*:**

* Набор следует хранить при температуре 2 - 8°C.
* Срок годности указывается на упаковке с набором. Не используйте наборы с истекшим сроком годности.
1. **Отбор и подготовка проб**
* С помощью набора для определения cCOR skyla могут исследоваться плазма с литий-гепарином, сыворотка и контрольные материалы. Для каждого теста требуется 35 мкл пробы.
* При использовании проб цельной крови их следует центрифугировать перед исследованием.
* Отбор и подготовка проб, их хранение, а также дальнейшее обращение с ними должно производиться в соответствии со стандартными лабораторными процедурами и требованиями местного законодательства.
* Для достижения лучших результатов рекомендуется выполнять тест сразу после отбора пробы.

**Замечания:**

1. **Центрифугируйте пробы цельной крови в течение 60 минут после отбора (при комнатной температуре) для предотвращения осаждения фибрина в крови.**
2. **Не используйте образцы, содержащие другие коагулянты. Это приведет к ошибкам в результатах анализа.**
3. **Липемичные образцы могут негативно повлиять на результат. Для получения хороших результатов, если образец очевидно мутный, рекомендуется его отцентрифугировать перед началом теста на высокоскоростной центрифуге (10000 х g) для удаления липидного слоя из надосадочной жидкости.**

**6. Процесс анализа**

 ***Подготовка набора к тесту***

1. Откройте фольгированный пакет и достаньте картридж.

***Установка картриджа на носитель***

1. Вращайте прорезь на носителе до совпадения с голубой меткой в центре диска-носителя.
2. Совместите голубую метку картриджа Е-типа с голубой меткой на прорези и вставьте картриджа в прорезь в указанном направлении.

4. Надавите на картридж до характерного щелчка.

***Внесение пробы в картридж***

5. Возьмите отцентрифугированную пробу.

6. С помощью дозатора отберите 35 мкл пробы из пробирки.

7. Добавьте 35 мкл пробы в картридж.

***Выполнение теста***

 8. Выберите иммунохимический отсек. Нажмите кнопку “Start” (Пуск) на экране для начала анализа.

9. Перед тем как открыть отсек и поместить картридж на диск-носитель, введите ID пациента и вид животного.

10. Поместите диск-носитель в отсек и нажмите ОК для начала анализа.

**Замечания:**

**1. При обращении с картриджем или анализатором надевайте лабораторные перчатки и прочие средства защиты во избежание инфицирования пробой.**

**2. Использованные наборы, наконечники дозатора и салфетки для протирки следует рассматривать как биологические отходы и обращаться с ними в соответствии с требованиями местного законодательства.**

**3. Анализ следует выполнять сразу же после вскрытия пакета.**

**4. Если картридж или его упаковка повреждены, или срок годности истек, не используйте диск.**

Более подробно рабочие шаги и настройка прибора приведены в Руководстве пользователя ветеринарного анализатора skyla Solution.

**7. Калибровка**

Штрих-код на каждом наборе содержит всю информацию необходимую для калибровки анализируемых показателей. Анализатор автоматически считает информацию штрих-кода в процессе анализа.

**8. Контроль качества**

* Подготовка и использование контрольных материалов описаны в соответствующих инструкциях. В случае расхождений с контрольными значениями рекомендуется выполнить проверочный тест на автоматическом лабораторном анализаторе или обратиться в службу технической поддержки.
* Материалы внешнего контроля качества можно использовать для проверки точности работы анализатора skyla. Рекомендуем проводить контроль качества в следующих случаях:

- Не реже 1 раза в 30 дней;

- Перед использованием реагентов из новой партии;

- При перемещении анализатора или существенном изменении условий в лаборатории.

**9. Диапазон референсных норм**

В приведенной ниже таблице приведены референсные нормы COR у собак. Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория или клиника устанавливала собственные референсные нормы для своих пациентов.

|  |
| --- |
| **Пре-АКТ (фаза до пика адренокортикоидного гормона)** |
| < 2.0 мкг/дл | Следует оценивать в сочетании с пост-АКТ результатами. Если оба результата < 2.0 мкг/дл, это указывает на гипоадренокортицизм |
| 2,0 – 6,0 мкг/дл | Норма |
| > 22 мкг/дл | Вероятен синдром Кушинга, рекомендуется выполнить большой дексаметазоновый тест (HDDST) |
| **Пост-АКТ (фаза после пика адренокортикоидного гормона)** |
| < 2.0 мкг/дл | Следует оценивать в сочетании с пре-АКТ результатами. Если оба результата < 2.0 мкг/дл, это указывает на гипоадренокортицизм |
| 2,0 – 5,9 мкг/дл | Не показательно |
| 6,0 – 18 мкг/дл | Норма |
| 2,0 – 6,0 мкг/дл | Сомнительный результат |
| > 22 мкг/дл  | Вероятен синдром Кушинга, рекомендуется выполнить большой дексаметазоновый тест (HDDST) для окончательного диагноза (PDH или АТН) |
| **Через 4 часа** | **Через 8 часов** | **LDDST (дексаметазоновый тест с малой дозой)** |
| - | < 1.0 мкг/дл | Норма |
| 1,0 – 1,5 мкг/дл | 1,0 – 1,5 мкг/дл | Не показательно, рекомендуется повторить тест через 8 – 12 недель |
| > 1,5 мкг/дл и > 50% от базового уровня | > 1,5 мкг/дл и > 50% от базового уровня | Вероятен синдром Кушинга, рекомендуется выполнить большой дексаметазоновый тест (HDDST) для окончательного диагноза (PDH или АТН) |
| > 1,5 мкг/дл или < 50% от базового уровня | > 1,5 мкг/дл и > 50% от базового уровня | Соответствует PDH (Pituitary-Dependent Hyper-adrenocorticism, гипофизный гиперадренокортицизм) |
| > 1,5 мкг/дл или > 50% от базового уровня | > 1,5 мкг/дл и < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| > 1,5 мкг/дл или < 50% от базового уровня | > 1,5 мкг/дл и < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| **Через 4 часа** | **Через 8 часов** | **HDDST (дексаметазоновый тест с большой дозой)** |
| < 1,5 мкг/дл или < 50% от базового уровня | > 1,5 мкг/дл и > 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| > 1,5 мкг/дл и > 50% от базового уровня | < 1,5 мкг/дл или < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| < 1,5 мкг/дл или <50% от базового уровня | < 1,5 мкг/дл или < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| > 1,5 мкг/дл и > 50% от базового уровня | > 1,5 мкг/дл и > 50% от базового уровня | Для окончательного диагноза (PDH или АТН) выполните дополнительный тест |
| **Пре-АКТ (фаза до пика адренокортикоидного гормона)** |
| < 55,2 нмоль/л | Следует оценивать в сочетании с пост-АКТ результатами. Если оба результата < 2.0 мкг/дл, это указывает на гипоадренокортицизм |
| 55,2 – 166 нмоль/л | Норма |
| > 607 нмоль/л | Вероятен синдром Кушинга, рекомендуется выполнить большой дексаметазоновый тест (HDDST) |
| **Пост-АКТ (фаза после пика адренокортикоидного гормона)** |
| < 55,2 нмоль/л | Следует оценивать в сочетании с пре-АКТ результатами. Если оба результата < 2.0 мкг/дл, это указывает на гипоадренокортицизм |
| 55,2 – 166 нмоль/л | Не показательно |
| 167 – 496 нмоль/л | Норма |
| 497 – 607 нмоль/л | Сомнительный результат |
| > 607 нмоль/л | Вероятен синдром Кушинга, рекомендуется выполнить большой дексаметазоновый тест (HDDST) для окончательного диагноза (PDH или АТН) |
| **Через 4 часа** | **Через 8 часов** | **LDDST (дексаметазоновый тест с малой дозой)** |
| - | < 27,6 нмоль/л | Норма |
| 27,6 – 41,4 нмоль/л | 27,6 – 41,4 нмоль/л | Не показательно, рекомендуется повторить тест через 8 – 12 недель |
| > 41,4 нмоль/л и > 50% от базового уровня | > 41,4 нмоль/л и > 50% от базового уровня | Вероятен синдром Кушинга, рекомендуется выполнить большой дексаметазоновый тест (HDDST) для окончательного диагноза (PDH или АТН) |
| > 41,4 нмоль/л или < 50% от базового уровня | > 41,4 нмоль/л и > 50% от базового уровня | Соответствует PDH (Pituitary-Dependent Hyper-adrenocorticism, гипофизный гиперадренокортицизм) |
| > 41,4 нмоль/л или > 50% от базового уровня | > 41,4 нмоль/л и < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| > 41,4 нмоль/л или < 50% от базового уровня | > 41,4нмоль/л и < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| **Через 4 часа** | **Через 8 часов** | **HDDST (дексаметазоновый тест с большой дозой)** |
| < 41,4 нмоль/л или < 50% от базового уровня | > 41,4 нмоль/л и > 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| > 41,4 нмоль/л и > 50% от базового уровня | < 41,4 нмоль/л или < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| < 41,4 нмоль/л или <50% от базового уровня | < 41,4 нмоль/л или < 50% от базового уровня | Соответствует PDH |
| > 41,4 нмоль/л и > 50% от базового уровня | > 41,4 нмоль/л и > 50% от базового уровня | Для окончательного диагноза (PDH или АТН) выполните дополнительный тест |

**10. Ограничения**

К физиологически обусловленным мешающим факторам в крови относятся гемолиз, иктеричность и липемия. Для каждого из исследуемых показателей использовались сыворотки с известными концентрациями эндогенных веществ 2 уровней. Существенным было принято смещение результатов теста >20%.

|  |  |
| --- | --- |
| Показатель | Концентрация веществ с мешающим влиянием менее 20% |
| Гемоглобин | Билирубин | Интралипиды |
| cCOR | 400 мг/дл | 18,9 мг/дл | 1017 мг/дл  |

**11. Характеристики аналитической эффективности**

***Динамический диапазон:***

Диапазоны измерения для cCOR приведены ниже:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатель | Диапазон измерения | Диапазон измерения (ед. SI) |
| cCOR | 1,0 - 30 | мкг/дл | 27,6 - 828 | нмоль/л |

***Погрешность измерения*:**

В качестве метода оценки точности исследования использовалось измерение контрольных растворов с высокой и низкой концентрацией аналитов. Тесты выполнены по 3 повторения в день в течение 5 дней. Результаты показаны в таблице ниже:

|  |  |
| --- | --- |
| Показатель | cCOR |
| Уровень | Контроль низкий | Контроль высокий |
| Единицы измерения | мкг/дл | мкг/дл |
| Среднее значения | 6,9 | 17,6 |
| Станд. отклонение. | 0,321 | 0,928 |
| %CV | 4,7 | 5,3 |

Сравнение метода производилось с анализатором EuroLyser Diagnostica solo. Сравнение различных аналитических систем возможно путем статистического анализа. Всего исследовалось 30 проб плазмы собак (N=30) с разбросом значений 1,0 – 8,5 мкг/дл. Получено уравнение регрессии y=0,920x+0,368 с коэффициентом корреляции R=0,924.



|  |
| --- |
| \*solo – торговая марка компании EuroLyser Diagnostica GmbH.**Использованные символы** |
|  | Каталожный номер |  | При использовании смотри инструкцию |
|  | Код партии |  | Использовать до |
|  | Производитель |  | Знак соответствия европейским стандартам |
|  | Температурные пределы |  | Осторожно! |
|  | Не использовать повторно |  | Рассчитано на |

|  |  |
| --- | --- |
| Поставщик: | SKYLA CORPORATION H.S.P.B.  |
| Адрес: | No. 8, Dusing Road, Hsinchu Science Park, East Dist. Hsinchu City, Taiwan |
| Служба технической поддержки: | +886-3-611-8511 |
| Сайт: | www.skyla.com |

 Дата выпуска: 16.07.2021

 Дата ревизии: 03.05.2022