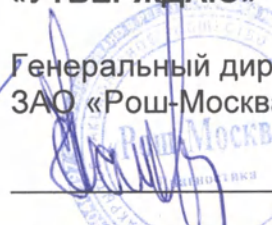


35
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»


М. Петрович

«28» января 2008г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Набор калибраторов для определения свободного b-ХГЧ (b-хорионического гонадотропина человека) (Elecsys Free b-HCG CalSet)

free β -hCG CalSet

Свободный β -ХГЧ Калибровочный набор

Для анализаторов Elecsys и cobas e

04854080 200

4 флакона x 1,0 мл

Назначение

«Elecsys Свободный β -ХГЧ калибровочный набор» предназначен для калибровки количественного теста «Elecsys Свободный β -ХГЧ» на иммунохимических анализаторах Elecsys и cobas e.

Общая информация

«Elecsys Свободный β -ХГЧ калибровочный набор» состоит из лиофилизированной сыворотки человека с добавлением рекомбинантного свободного β -ХГЧ в двух диапазонах концентраций.

Калибровочный набор может быть использован со всеми сериями реагентов.

Реактивы – содержание и концентрации

Free β -hCG Cal1 - Свободный β -ХГЧ калибратор 1: 2 флакона по 1,0 мл калибратора 1

Free β -hCG Cal2 - Свободный β -ХГЧ калибратор 2: 2 флакона по 1,0 мл калибратора 2

Свободный β -ХГЧ в двух диапазонах концентраций (около 1 МЕ/л и 64 МЕ/л) в матриксе из сыворотки человека.

Точные значения концентрации калибратора, строго специфичные для каждой серии, закодированы в штриховом коде (или доступны по электронной почте) и обозначены на этикетке со штриховым кодом калибратора.

Показатели калибраторов

«Elecsys свободный β -ХГЧ» стандартизован по отношению к Международному Стандарту для β -субъединицы ХГЧ Национального института биологических стандартов и контролей (NIBSC), код 75/551.

Меры безопасности

Предназначается для диагностики in vitro.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Расходные материалы и все отходы должны обрабатываться по принятым в лаборатории правилам.

Возможно предоставление перечня мер по безопасности для профессионального использования по запросу.

Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфицированные.

Материалы человеческого происхождения проверены на ВИЧ и гепатиты В и С и были отрицательны.

Применялись методы, одобренные FDA или Европейскими директивами (European Directive 98/79/EC, Annex II, List A.).

Однако, поскольку никакими методами обследования нельзя с полной уверенностью исключить потенциальный риск заражения, с этим материалом следует обращаться столь же осторожно, как с пробами сыворотки крови пациентов. В случае загрязнения нужно следовать директивам соответствующих органов здравоохранения [1, 2].

Реактивы не должны использоваться после истечения указанного срока годности.

Избегать образования пены во всех типах реагентов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Работа с калибраторами

Осторожно растворить содержимое одного флакона, добавив 1,0 мл дистиллированной воды и оставить стоять закрытым в течение 15 минут до восстановления. Аккуратно перемешать, избегая образования пены.

Перенести восстановленный калибратор в содержащиеся в наборе пустые флаконы с обжимной крышкой (CalSet Vials). Наклеить этикетки на дополнительные флаконы. Быстро убрать аликвоты в холодильник и хранить при -20°C.

Выполнять только одну калибровку на аликвоту.

Хранение и стабильность

Хранить при 2-8°C.

Лиофилизированные калибраторы стабильны до окончания указанного срока годности.

Стабильность растворенных калибраторов:

при -20°C	3 месяца (только однократное замораживание)
при 2-8°C	6 недель
на анализаторах при 20-25°C	до 5 часов

Предоставляемые материалы

- «Elecsys свободный β -ХГЧ калибровочный набор», карта со штриховым кодом, 4 маркированных пустых флакона с обжимными крышками, 2 x 6 этикеток для флаконов.

Необходимые (но не предоставляемые) материалы

- Кат. № 11776576322, Elecsys CalSet Vials, 2 x 56 пустых флаконов с обжимными крышками
- Анализаторы Элексис 2010, МОДУЛАР Е170 или cobas e и аналитические реактивы «Elecsys свободный β -ХГЧ». Дополнительные необходимые материалы указаны во вкладыше к реагентам и в инструкции для оператора для анализаторов.
- Дистиллированная или деионизированная вода.

Инструкции по применению

Поместить растворенные калибраторы (в системных флаконах со штрих-кодами) в зону образца. Вся информация, необходимая для калибровки теста, закодирована на прилагаемой карте со штриховым кодом, в штриховом коде реактива и в штриховом коде на этикетке флакона; она автоматически считывается анализатором.

Убедиться, что калибраторы прогреты до комнатной температуры (20-25°C) перед употреблением.

Ссылки

1. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.
2. Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities No. L262 from Oct. 17, 2000.

Для получения более подробной информации обращайтесь к соответствующим инструкциям к анализаторам и всем необходимым компонентам, используемым в работе.

COBAS, COBAS E, ELECSYS и MODULAR являются торговыми марками Roche. Другие бренды и наименования продукции являются торговыми марками других производителей.

©2007 Roche Diagnostics.

38
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»

М. Петрович

«28» января 2008г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Набор калибраторов
для определения PAPP-A (Elecsys PAPP-A CalSet)

PAPP-A CalSet

PAPP-A калибровочный набор

free β -subunit of human chorionic gonadotropin

Ассоциированный с беременностью плазменный протеин А

Для анализаторов Elecsys и cobas e

04854101 200

4 x 1,0 мл

Назначение

«Elecsys PAPP-A калибровочный набор» предназначен для калибровки количественного теста «Elecsys PAPP-A» на иммунохимических анализаторах Elecsys и cobas e.

Общая информация

«Elecsys PAPP-A калибровочный набор» состоит из лиофилизированной сыворотки человека с добавлением PAPP-A человека в двух диапазонах концентраций.

Калибровочный набор может быть использован со всеми сериями реагентов.

Реактивы – содержание и концентрации

PAPP-A Cal1 - PAPP-A калибратор 1: 2 флакона по 1,0 мл калибратора 1

PAPP-A Cal2 - PAPP-A калибратор 2: 2 флакона по 1,0 мл калибратора 2

PAPP-A в двух диапазонах концентраций (около 75 мМЕ/л и 2500 мМЕ/л) в матриксе из сыворотки человека.

Точные значения концентрации калибратора, строго специфичные для каждой серии, закодированы в штриховом коде (или доступны по электронной почте) и обозначены на этикетке со штриховым кодом калибратора.

Калибровка

Данный метод стандартизован по отношению к доступному коммерческому тесту, который в свою очередь стандартизован по Стандарту ВОЗ для PAPP-A - IRP 78/610.

Меры безопасности

Предназначается для диагностики *in vitro*.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Расходные материалы и все отходы должны обрабатываться по принятым в лаборатории правилам.

Возможно предоставление перечня мер по безопасности для профессионального использования по запросу.

Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфицированные.

Материалы человеческого происхождения проверены на ВИЧ и гепатиты В и С и были отрицательны.

Применялись методы, одобренные FDA или Европейскими директивами (European Directive 98/79/EC, Annex II, List A.).

Однако, поскольку никакими методами обследования нельзя с полной уверенностью исключить потенциальный риск заражения, с этим материалом следует обращаться столь же осторожно, как с пробами сыворотки крови пациентов. В случае загрязнения нужно следовать директивам соответствующих органов здравоохранения [1, 2].

Реактивы не должны использоваться после истечения указанного срока годности.

Избегать образования пены во всех типах реагентов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Работа с калибраторами

Осторожно растворить содержимое одного флакона, добавив 1,0 мл дистиллированной воды и оставить стоять закрытым в течение 15 минут до восстановления. Аккуратно перемешать, избегая образования пены.

Перенести восстановленный калибратор в содержащиеся в наборе пустые флаконы с обжимной крышкой (CalSet Vials). Наклеить этикетки на дополнительные флаконы. Быстро убрать аликвоты в холодильник и хранить при -20°C.

Выполнять только одну калибровку на аликвоту.

Хранение и стабильность

Хранить при 2-8°C.

Лиофилизированные калибраторы стабильны до окончания указанного срока годности.

Стабильность растворенных калибраторов:

при -20°C	3 месяца (только однократное замораживание)
на анализаторах при 20-25°C	до 5 часов

Предоставляемые материалы

- «Elecsys RAPP-A калибровочный набор», карта со штриховым кодом, 4 маркированных пустых флакона с обжимными крышками, 2 x 6 этикеток для флаконов.

Необходимые (но не предоставляемые) материалы

- Кат. № 11776576322, Elecsys CalSet Vials, 2 x 56 пустых флаконов с обжимными крышками
- Анализаторы Элексис 2010, МОДУЛАР E170 или cobas e и аналитические реактивы «Elecsys свободный β-ХГЧ». Дополнительные необходимые материалы указаны во вкладыше к реагентам и в инструкции для оператора для анализаторов.
- Дистиллированная или деионизированная вода.

Инструкции по применению

Поместить растворенные калибраторы (в системных флаконах со штрих-кодами) в зону образца. Вся информация, необходимая для калибровки теста, закодирована на прилагаемой карте со штриховым кодом, в штриховом коде реактива и в штриховом коде на этикетке флакона; она автоматически считывается анализатором.

Убедиться, что калибраторы прогреты до комнатной температуры (20-25°C) перед употреблением.

Ссылки

1. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.
2. Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities No. L262 from Oct. 17, 2000.

Для получения более подробной информации обращайтесь к соответствующим инструкциям к анализаторам и всем необходимым компонентам, используемым в работе.

COBAS, COBAS E, ELECSYS и MODULAR являются торговыми марками Roche. Другие бренды и наименования продукции являются торговыми марками других производителей.

©2007 Roche Diagnostics.

31
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»

М. Петрович

«28» января 2008г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Набор реагентов для
определения PAPP-A (Elecsys PAPP-A)

PAPP-A

Pregnancy-associated plasma protein A

Ассоциированный с беременностью плазменный протеин А

Для анализаторов Elecsys и cobas e

04854098 200

100 тестов

Тест-система предназначена для анализаторов:

Elecsys 2010

MODULAR ANALYTICS E170

cobas e 411

cobas e 601

Внимание! Концентрация PAPP-A в пробах может значительно варьировать в зависимости от применяемого метода исследования. Бланк с полученными в лаборатории показателями обязательно должен содержать информацию об используемом методе определения PAPP-A. Уровни PAPP-A в образце сыворотки крови пациента, полученные различными методами не могут сравниваться напрямую друг с другом, так как это может привести к диагностической ошибке.

Если требуется замена теста для определения PAPP-A пациенту в процессе мониторинга проводимой терапии, то следует произвести параллельное определение концентрации этого белка новым и старым методом для сопоставления показателей.

Назначение

Тест-система для количественного определения in vitro ассоциированного с беременностью плазменного протеина А в сыворотке крови человека.

Набор «Elecsys PAPP-A» применяется как один из компонентов в комплексе параметров для оценки риска трисомии 21 (синдром Дауна) у плода в первом триместре беременности. Для диагностики требуется дальнейшее обследование на наличие хромосомных aberrаций.

Электрохемилюминесцентный иммунотест «ECLIA - ЭХЛА» предназначен для использования на иммунохимических анализаторах Elecsys и cobas e.

Общая информация

Ассоциированный с беременностью плазменный протеин А человека (PAPP-A) является крупным гликопротеином с молекулярной массой 200 kDa, который относится к пептидам цинка [1]. PAPP-A впервые был выделен из сыворотки беременных женщин, концентрация у которых постоянно повышалась вплоть до родов. PAPP-A продуцируется трофобластом и секретируется в материнскую сыворотку где в основном циркулирует в виде комплекса гетеротетромера 2:2 вместе с двумя субъединицами предшественника большого базального эозинофильного (proMBP) [2,3,4].

В настоящее время доказано, что концентрация PAPP-A в сыворотке является надежным маркером фетальной анеуплоидии. Многими исследованиями подтверждено, что PAPP-A в сочетании со свободным β -ХГЧ и ультразвуковым исследованием (УЗИ) толщины воротникового пространства у плода (nuchal translucency - NT) являются маркером выбора для идентификации повышенного риска беременности плодом с синдромом Дауна в первом триместре беременности (11-14 недели) [5]. Вспользование такой комбинации маркеров позволяет идентифицировать патологию в 70% случаев (только по сывороточным маркерам) и в 90% - в комбинации с УЗИ, при этом получено 5% ложно положительных результатов [6,7,8].

Значения медиан сывороточного PAPP-A при беременности плодом с анеуплоидией ниже, чем медианы при беременности с нормально развивающимся плодом [9].

83

С учетом возраста беременной можно рассчитать риск синдрома Дауна у плода по специфическому алгоритму, например базируясь на коэффициент вероятности [10].

Принцип теста

Принцип сэндвича. Общая продолжительность анализа: 18 минут.

- 1-ая инкубация: 15 мкл образца, биотинилированное моноклональное специфическое к PAP-A антитело и моноклональное специфическое к PAP-A антитело, меченное комплексом рутения*, реагируют с образованием «сэндвич»-комплекса.
- 2-я инкубация: после добавления покрытых стрептавидином микрочастиц комплекс связывается с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина.
- Реакционная смесь аспирируется в измерительную ячейку, где микрочастицы оседают на поверхность электрода вследствие магнитного взаимодействия. Затем удаляются несвязанные вещества с помощью ПроСелл (ProCell). После этого приложенное к электроду напряжение вызывает хемилюминесцентную эмиссию, которая измеряется фотоумножителем.
- Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, получаемой специальным для данного прибора способом калибровки через 2 точки, и эталонной кривой, получаемой с помощью штрихового кода реактива.

* Комплекс трис(2,2'-бипиридил)рутения(II) $(Ru(bpy)^{2+}_3)$

Реактивы - содержание и концентрации

М Микрочастицы, покрытые стрептавидином (прозрачная крышка), 1 флакон, 6,5 мл:
микрочастицы, покрытые стрептавидином 0.72 мг/мл, консервант.

R1 Анти- PAP-A -антитела~биотин (серая крышка), 1 флакон, 9 мл:
биотинилированные моноклональные анти- PAP-A антитела (мыши) 2,0 мг/л; TRIS буфер 50 ммоль/л, pH 7,0; консервант.

R2 Анти- PAP-A -антитела~ $Ru(bpy)^{2+}_3$ (черная крышка), 1 флакон, 9 мл:
моноклональные анти- PAP-A антитела (мыши), меченные комплексом рутения, 1,0 мг/л; фосфатный буфер 50 ммоль/л, pH 7,4; консервант.

Меры предосторожности

Применять только для диагностики in vitro.

Соблюдать обычные правила предосторожности, необходимые при работе со всеми лабораторными реактивами.

Проводить удаление отработанных материалов в соответствии с установленными требованиями в лаборатории.

Избегать образования пены во всех типах реагентов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Работа с реактивами

Реактивы в наборе собраны в готовом к употреблению виде и не должны разделяться. Вся информация, необходимая для правильной работы, считывается автоматически со штрихового кода реактива.

Хранение и стабильность

Хранить при 2 - 8°C.

Хранить набор реактивов «Elecsys PAP-A » в вертикальном положении, чтобы обеспечить полную доступность микрочастиц во время автоматического смешивания реагента перед использованием.

Стабильность:

До вскрытия при 2 - 8°C:

до окончания указанного срока годности.

После вскрытия: при 2-8°C	4 недели
На анализаторах:	3 недели

Сбор и подготовка образцов

Были протестированы и признаны пригодными к использованию только перечисленные ниже типы образцов!

Сыворотка, собранная с использованием стандартных пробирок для сбора образцов или пробирок, содержащих разделительный гель.

Не использовать плазму.

Образцы стабильны в течение 8 часов при 15-25°C, 3 дней при 2-8°C и 3 месяцев при минус 20°C.

Перечисленные типы образцов были протестированы в выборочных пробирках для сбора образцов, доступных для закупок во время проведения исследований, то есть протестированы на пригодность пробирки не всех производителей. Системы для сбора образцов могут содержать различные материалы, которые могут в отдельных случаях отрицательно повлиять на результаты теста. При использовании образцов, собранных в стандартных пробирках, обращайтесь к инструкции производителя пробирок.

Образцы, содержащие осадок, должны быть отцентрифугированы перед проведением анализа. Не использовать термически инактивированные образцы. Нельзя использовать образцы и контроли, стабилизированные азидом.

Перед измерением выдержать сыворотки пациентов, калибраторы и контроли при температуре окружающей среды 20 - 25°C.

Из-за возможного эффекта испарения образцы, калибраторы и контроли следует измерять на анализаторе в пределах 2-х часов.

Материалы необходимые для проведения анализа

Прилагаемые материалы

Смотри раздел «Реактивы – состав и концентрации»

Необходимые материалы (не прилагаются)

- Кат. № 04854101, «Elecsys PAPP-A Калибровочный набор», 4 флакона x 1 мл
- Кат. № 04899881, PreciControl Maternal Care – контрольная сыворотка для материнского скрининга, по 3 флакона x 2 мл для PreciControl Maternal Care 1, 2 и 3.
- Кат. № 11732277, Elecsys Diluent Universal, 2 x 18 мл разбавителя для проб
- Кат. № 03183971, Elecsys Diluent Universal, 2 x 40 мл разбавителя для проб
- Кат. № 11776576, Elecsys CalSet Vials, 2 x 56, флаконы для калибраторов
- Обычное лабораторное оборудование
- Анализаторы Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 или cobas e

Для оценки риска трисомии 21:

- Кат. № 04854071, тест-система «Elecsys свободный β-ХГЧ», 100 определений
- Кат. № 04854080, калибровочный набор «Elecsys свободным β-ХГЧ CalSet», 4 флакона x 1 мл
- Подходящая компьютерная программа, например: Кат. № 05126193, «SsdwLab» (версия 5.0 или более)

Аксессуары для Elecsys 2010 и cobas e 411

- Кат. № 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 мл системного буфера
- Кат. № 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 мл моющего раствора для измерительной ячейки
- Кат. № 11930346, SysWash Elecsys, 1 x 500 мл добавка для дистиллированной воды
- Кат. № 11933159, Adapter for SysClean, адаптер для системного промывающего раствора

- Кат. № 11706802, Elecsys 2010 Assay Cup, 60 × 60 аналитических пробирок
 - Кат. № 11706799, Elecsys 2010 Assay Tip, 30 × 120 наконечников для дозатора
- Аксессуары для MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601*
- Кат. № 04880340, Elecsys ProCell M, 2 бутылки × 2 л системного буфера
 - Кат. № 04880293, Elecsys CleanCell M, 2 × 2 л моющего раствора для измерительной ячейки
 - Кат. № 03023141, PC/CC-Cups, 12 пробирок для предварительного прогревания растворов ProCell M и CleanCell M
 - Кат. № 03005712, ProbeWash M, 12 × 70 мл, чистящий раствор для финальной промывки и промывок в процессе замены реагентов
 - Кат. № 12102137, Assay Cup/Assay Tips Combimagazine M, 48 комплектов × 84 реакционных пробирок или наконечников, мешки для отходов
 - Кат. № 03023150, WasteLiner, Waste bags, мешки для отходов
 - Кат. № 03027651, SysClean Adapter M, адаптер для системного промывающего раствора
- Аксессуары для обоих анализаторов:*
- Кат. № 11298500, Elecsys SysClean, 5 × 100 мл системный промывающий раствор

Измерение

Для оптимального качества анализа важно следовать инструкциям к анализаторам, и следить за тем, чтобы комплектация материалов для тест-системы и других расходуемых материалов была адекватной. Перемешивание микрочастиц перед использованием и считывание параметров данного теста из штрих-кода реактива происходит автоматически. Никакой ручной работы не требуется. Если в исключительных случаях штрих-код не считывается, введите последовательность из 15 цифр вручную.

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e: Довести температуру охлажденных реактивов примерно до 20°C и поместить их на диск для реактивов анализатора. Избегать образования пены. Система автоматически регулирует температуру реактивов и открывание/закрывание флаконов.

Поместить калибраторы (Cal1 и Cal2) в отсек для проб анализатора. Открывать только на время калибровки. Вся информация, необходимая для калибровки, содержится в штрих-коде на этикетке флаконов и считывается автоматически. После завершения калибровки хранить калибраторы (Cal1 и Cal2) при 2–8°C или выбросить (MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601).

Калибраторы

Данный метод стандартизован по отношению к доступному коммерческому тесту, который в свою очередь стандартизован по Стандарту ВОЗ для PAPP-A - IRP 78/610.

Каждый набор реактивов «Elecsys PAPP-A» имеет этикетки со штриховым кодом, содержащим полную специфическую информацию, необходимую для калибровки данной серии реактива. Референсная калибровочная кривая адаптируется к анализатору путем использования набора калибраторов: «Elecsys PAPP-A Калибровочный набор».

Частота калибровки. Калибровка должна проводиться каждый раз для новой партии реактивов с использованием свежих реактивов (т.е. бывшие в анализаторе не более 24 часов).

Рекомендуется обновлять калибровку следующим образом:

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e:

- через один месяц (28 дней) когда используется одна и та же партия реактивов
- через 7 дней (когда используется один набор реактивов в анализаторе)

Для всех типов анализаторов:

- по мере необходимости, например, если результаты контроля качества выходят за пределы надлежащего диапазона.

Контроль качества

«Elecsys PreciControl Maternal Care 1, 2 и 3» – контрольная сыворотка для материнского скрининга 1, 2 и 3. Можно использовать и другие подходящие контроли.

Контроли для различных диапазонов концентраций должны исследоваться как одиночные определения минимум один раз каждые 24 часа при использовании теста, один раз для каждой новой упаковки реактивов и после каждой калибровки. Контрольные интервалы должны соответствовать требованиям конкретных лабораторий. Полученные значения должны находиться в пределах установленных диапазонов. Каждая лаборатория должна выработать правила, позволяющие принять корректирующие меры в случае, если значения выходят за пределы диапазона.

Расчет результатов

Анализаторы автоматически рассчитывают концентрацию аналита в каждом образце в МЕ/л, мМЕ/л или мМЕ/мл.

Ограничения - интерференция

На анализ не влияют желтуха (билирубин <205 мкмоль/л или <12 мг/дл), гемолиз (гемоглобин $<0,621$ ммоль/л или $<1,0$ г/дл), липемия (Интралипид <1500 мг/дл) и биотин <123 нмоль/л или <30 нг/мл.

Критерий: открытие в пределах $\pm 10\%$ начального значения.

У пациентов, получающих лечение высокими дозами биотина, (а именно, > 5 мг/день) следует брать пробы не раньше, чем через 8 часов после последнего введения биотина.

Не обнаружено влияние ревматоидного фактора (до 1000 МЕ/мл).

Отсутствует эффект высокой дозы при концентрации PAPP-A до 120000 мМЕ/мл.

Проведены тесты *in vitro* на 18 наиболее распространенных лекарственных препаратах. Влияния на результаты анализа при этом не обнаружено.

В очень редких случаях может происходить интерференция, обусловленная очень высокими титрами антител к аналит специфическим антителам, стрептавидину или рутению. Тест-система содержит дополнительные компоненты, сводящие к минимуму такие эффекты.

Для диагностических целей результаты теста всегда следует рассматривать в совокупности с историей болезни пациента, результатами клинического обследования и другими данными.

Диапазон измерения

4 - 10000 мМЕ/л (диапазон определен по нижнему пределу обнаружения и максимальной точке референсной калибровочной кривой). Значения ниже аналитической чувствительности метода обозначаются как <4 мМЕ/л. Значения выше верхнего предела измерения обозначаются как >10000 мМЕ/л (или более 100000 мМЕ/л для образцов, разведенных в 10 раз).

Разведение

Образцы с концентрацией PAPP-A, превышающей диапазон измерения, можно развести Универсальным Раствором для разведения образцов. Рекомендуется разведение 1:10 (в автоматическом режиме на анализаторах MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e или вручную). Концентрация PAPP-A в разведенном образце должна быть >500 мМЕ/л. После ручного разведения необходимо умножить полученный результат на фактор разведения. При разведении на анализаторах MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e прибор произведет расчет концентрации в автоматическом режиме с учетом фактора разведения.

Ожидаемые значения и клинические исследования

Ниже представлены данные, полученные при использовании тест-системы «Elecsys PAPP-A».

1. Исследование для получения референсных диапазонов на панели образцов сыворотки крови 500 здоровых небеременных доноров (исследование Roche No. R04P026) $< 7,15$ мМЕ/л (95-я перцентиль).

2. Исследование тест-систем «Elecsys PAPP-A» и «Elecsys свободный β -ХГЧ» и для оценки риска трисомии 21 в первом триместре беременности (исследование Roche No. B05P020стату Июль 2007).

Исследования проводились в четырех клинических центрах в Бельгии, Швейцарии и Германии с использованием тест-систем «Elecsys свободный β -ХГЧ» и «Elecsys PAPP-A». Показатели медиан (на 11-14 неделях гестации) были рассчитаны по анализу логарифмически-линейной регрессии (log-linear regression) 3270 показателей PAPP-A в середине соответствующих недель беременности. Гестационный возраст рассчитывался по УЗИ показателям копчико-теменного размера плода (CRL) по Robinson [11].

Неделя гестации	11	12	13	14
Количество образцов сыворотки крови	206	623	1384	1057
Медиана (мМЕ/л)	1337	1919	2926	4358

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых результатов на собственных пациентов и в случае необходимости определить собственные референсные диапазоны.

Для пренатального тестирования рекомендуется периодически значения медиан рассчитывать заново.

Клинические аналитические характеристики:

Всего было проанализировано 1079 поступивших на рутинные клинические исследования образцов сыворотки крови от пациенток с известным исходом.. В этой группе 32 образца крови были получены от пациенток с подтвержденным синдромом Дауна у плода. Все образцы были параллельно исследованы методами определения PAPP-A и свободного β -ХГЧ, сертифицированными FMF (Fetal Medicine Foundation – Фонд Фетальной Медицины). Оценка риска производилась с помощью компьютерной программы SsdwLab, версия 5,0. Как уже сообщалось ранее, в данной программе используется алгоритм, описанный Palomaki и соавторами [12] с использованием математических расчетов по распределению Гаусса [13]. Оценка риска базируется на возрасте женщины, толщине воротникового пространства плода и результатах биохимических параметров, скорректированных различными факторами, такими как вес, курение и этническая принадлежность беременной женщины.

Расчет индивидуального риска:

Расчет индивидуального риска беременности одним плодом с трисомией 21 был произведен без учета показателей толщины воротникового пространства плода для демонстрации эффективности биохимических методов. Учитывались вес женщины и курение как факторы коррекции. Совпадение результатов оценки риска сравнивали с конкурирующими методами при использовании дискриминационного уровня (cut-off), установленного лабораториями, участвующими в исследовании [14,15].

Каждый пользователь метода в праве выбрать показатель дискриминационного уровня для своей лаборатории.

Совпадение данных анализа

А. Совпадение данных анализа у беременных с нормально развивающимся плодом (n = 1047)

	Риск > cut-off (Roche*)	Риск < cut-off (Roche*)
Риск > cut-off (конкурирующий метод **)	55 (5.2%)	26 (2.5%)
Риск < cut-off (конкурирующий метод **)	6 (0.6%)	960 (91.7%)

В 1047 случаях с нормально развивающимся плодом методом Roche было корректно выявлено 986 образцов сыворотки крови (специфичность: 94,2%), при этом конкурирующим

методом было корректно выявлено 966 образцов (специфичность: 92,3%).

Б. Уровень детекции беременности с подтвержденной трисомией 21 у плода (n = 32).

	Риск > cut-off (Roche*)	Риск < cut-off (Roche*)
Риск > cut-off (конкурирующий метод **)	21 (65.6%)	0
Риск < cut-off (конкурирующий метод **)	3 (9.4%)	8 (25%)

В 32 образцах сыворотки крови женщин беременных плодом с трисомией 21 показатель выявления этой патологии составил 75% (24/32), а конкурирующим методом – 65,6% (21/32).

* Комбинация результатов по тест-системам «Elecsys PAPP-A» и «Elecsys свободный β-ХГЧ»

** Комбинация результатов по конкурирующим тест-системам для определения свободного PAPP-A и β-ХГЧ

Аналитические характеристики

Ниже приведены репрезентативные данные, полученные на анализаторах. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут несколько различаться.

Воспроизводимость (точность)

Воспроизводимость определяли с использованием реактивов Elecsys, пулов человеческой сыворотки и контролей в соответствии с модифицированным протоколом (EP5-A) Национального комитета клинических лабораторных стандартов (NCCLS): 6 раз в день в течение 10 дней (n=60). Воспроизводимость внутри анализа на MODULAR ANALYTICS E170 рассчитана при n=21.

Результаты анализа представлены ниже.

Анализаторы Elecsys 2010 и cobas e 411					
		Воспроизводимость внутри постановки		Общая воспроизводимость	
Образец	Среднее значение	SD	CV	SD	CV
	мМЕ/л	мМЕ/л	%	мМЕ/л	%
Сыворотка человека 1	283	6.7	2.4	6.6	2.3
Сыворотка человека 2	521	11.5	2.2	11.5	2.2
Сыворотка человека 3	4181	87.1	2.1	94.7	2.3
КС ^b для материнского скрининга 1	6630	111	1.7	133	2.0
КС для материнского скрининга 2	3361	55.0	1.6	58.7	1.8
КС для материнского скрининга 3	144	1.60	1.1	1.6	1.1

^b) КС = Контрольная сыворотка

Анализаторы MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601					
		Воспроизводимость внутри постановки			Общая воспроизводимость
Образец	Среднее	SD	CV	SD	CV

	значение				
	мМЕ/л	мМЕ/л	%	мМЕ/л	%
Сыворотка человека 1	280	5.55	2.0	7.67	2.8
Сыворотка человека 2	506	8.33	1.7	9.83	1.9
Сыворотка человека 3	4001	75.5	1.9	92.2	2.3
КС ^б для материнского скрининга 1	6335	107	1.7	114	1.8
КС для материнского скрининга 2	3229	36.8	1.1	45.3	1.4
КС для материнского скрининга 3	141	1.94	1.4	2.72	1.9

Аналитическая чувствительность (нижний предел обнаружения)

< 4 мМЕ/л.

Предел обнаружения представляет собой самую низкую концентрацию аналита, которую можно отличить от нуля. Его вычисляют как значение концентрации, лежащее на два стандартных отклонения выше от самого низкого стандарта (стандарт I эталонного калибратора + 2 SD, внутри-групповое сравнение, n = 21).

Метод сравнения

Сравнение метода производилось с использованием сыворотки человека по тест-системе «Elecsys PAPP-A» (y) и коммерчески доступному методу определения PAPP-A (x). Были получены следующие корреляции:

Количество проанализированных образцов: 627

Passing/Bablok¹⁶

Линейная регрессия

y = 0.968x - 4.90

y = 0.988x - 64.9

τ = 0.918

r = 0.987

Концентрация в образцах находилась приблизительно между 150 и 10000 мМЕ/л.

Аналитическая специфичность

Не выявлена перекрестная реактивность с ангензиногеном и α2-макроглобулином.

Функциональная чувствительность

< 20 мМЕ/л.

Функциональная чувствительность – наименьшая концентрация аналита, которая может быть воспроизведена с коэффициентом вариации 20%.

Ссылки

1. Lin TM, Halbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. Am J Obstet Gynecol 1974;118(2):223-236.
2. Bischof P. Pregnancy-Associated Plasma Protein-A. Seminars in Reproductive Endocrinology 1992;10(2):127-135.
3. Rosen SW. New Placental Proteins: Chemistry, Physiology and Clinical Use. Placenta 1986;7:575-594.
4. Overgaard MT, Sorensen ES, Stachowiak D, Boldt HB, Kristensen L, Sottrup-Jensen L, Oxvig C. Complex of Pregnancy-associated Plasma Protein-A and the Proform of Eosinophil Major Basic Protein. J Biol Chem 2003;278(4):2106-2117.
5. Canick JA, Lambert-Messerlian GM, Palomaki GE, Neveux LM, Malone FD, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, Saade GR, Berkowitz RL, Dar P, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, D'Alton ME. Comparison of Serum Markers in First-Trimester Down Syndrome Screening. Obstetrics & Gynecology 2006;108(5):1192-1199.

6. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technol Assess* 2003;7(11).
 7. Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, et al. First-Trimester or Second-Trimester Screening, or Both, for Down's Syndrome. *New Eng J Med* 2005;353(19):2001-2011.
 8. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, and Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:221-226.
 9. Spencer K, Crossley JA, Aitken DA, Nix ABJ, Dunstan FDJ, Williams K. Temporal changes in maternal serum biochemical markers of trisomy 21 across the first and second trimester of pregnancy. *Ann Clin Biochem* 2002;39:567-576.
 10. Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Brit J Obstet Gynaecol* 1987;94:387-402.
 11. Robinson HP, Fleming JE. A critical evaluation of sonar "crown-rump length" measurements. *Br J Obstet Gynaecol* 1975;82(9):702-710.
 12. Palomaki GE, Haddow JE. Maternal serum α -fetoprotein, age, and Down syndrome risk. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:460-463.
 13. Reynolds TM, Penney MD. The mathematical basis of multivariate risk screening: with special reference to screening for Down's syndrome associated pregnancy. *Ann Clin Biochem* 1989;27:452-458.
 14. Bray I, Wright DE, Davies C, Hook EB. Joint estimation of Down syndrome risk and ascertainment rates: A meta-analysis of nine published data sets. *Prenat Diagn* 1998;18:9-20.
 15. Benn PA. Advances in prenatal screening for Down syndrome: I. General principles and second trimester testing. *Clin Chim Acta* 2002;323:1-16.
 16. Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.
- Для получения более подробной информации обращайтесь к соответствующим инструкциям к анализаторам и всем необходимым компонентам, используемым в работе.

COBAS, COBAS E, ELECSYS и MODULAR являются торговой маркой Roche. Другие бренды и наименования продукции являются торговыми марками других компаний. INTRALIPID является торговой маркой Fresenius Kabi AB.

©2007 Roche Diagnostics.

91
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»

М. Петрович

«28» января 2008г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Набор реагентов для определения антител к ТТГ-рецепторам (Elecsys anti-TSHR)

Anti-TSHR

Анти-ТТГр

Антитела к ТТГ рецепторам
Для анализаторов Elecsys и cobas e

04388780 190

100 определений

• Тест-система может использоваться на следующих анализаторах:

Elecsys 2010

MODULAR ANALYTICS E170

cobas e 411

cobas e 601

Назначение

Иммунотест для количественного *in vitro* определения антител к ТТГ-рецепторам в сыворотке крови человека с использованием тиреоидных стимулирующих моноклональных антител. Набор реагентов «Elecsys Анти-ТТГр» используется с целью дифференциальной диагностики болезни Грейвса. Электрохемилюминесцентный иммунотест («ECLIA» – ЭХЛА) используется на иммунохимических анализаторах Elecsys и cobas e.

Общая информация [1,2,3,4,5,6]

Гипертиреоз при болезни Грейвса (аутоиммунный гипертиреоз) возникает в результате выработки аутоантител к ТТГ рецепторам (ТТГр), и определение этих антител (анти-ТТГр) может быть полезным при диагностике и мониторинге этого заболевания. Большинство антител к ТТГ-рецепторам имитируют действие ТТГ. Поскольку они не контролируются системой обратной связи, стимуляция щитовидной железы этими антителами часто приводит к клинической картине тиреотоксикоза при болезни Грейвса.

Показания для определения анти-ТТГр:

- Выявление или исключение аутоиммунного гипертиреоза и его дифференциальная диагностика от автономной эктопии щитовидной железы.
Наличие анти-ТТГр указывает, что тиреотоксикоз у пациента скорее имеет аутоиммунное происхождение, чем является результатом токсического узлового зоба. Поскольку основное лечение болезни Грейвса может отличаться от лечения других форм тиреотоксикоза, необходимость определения анти-ТТГр становится очевидной.
- Мониторинг терапии болезни Грейвса и оценка вероятности рецидива у пациентов. Определение анти-ТТГр очень важно для принятия решения при мониторинге лечения [7,8,9]. Уровень анти-ТТГр имеет тенденцию к снижению в процессе лечения болезни Грейвса. Низкий уровень или отсутствие анти-ТТГр после курса лекарственной терапии может указывать на ремиссию, и поэтому может служить показателем к отмене лечения.
- Определение анти-ТТГр в последнем триместре беременности.
Поскольку анти-ТТГр являются антителами класса IgG, они проникают через плаценту и могут спровоцировать заболевание щитовидной железы плода. Определение анти-ТТГр во время беременности у пациенток с заболеваниями щитовидной железы в анамнезе важно для оценки риска развития патологии щитовидной железы у плода.

Детекция анти-ТТГр в общей клинической практике выполняется методами второй генерации с использованием техники иммобилизации человеческих или свиных ТТГ-рецепторов с помощью антител на стенке плашек или пробирок [10,11]. Такие методы

торможения связывания ТТГ выявляют способность сывороточных анти-ТТГр антител ингибировать связывание меченного ТТГ с иммобилизованными ТТГ-рецепторами. Чувствительность и прогностическая значимость метода при наблюдении за пациентами с болезнью Грейвса не зависят от того, какой вид ТТГ-рецепторов применяется, человеческий или свиной [12,13].

При наличии человеческого тиреоидстимулирующего моноклонального антитела (М22) [14, 15] необходимо разработать тест-систему для определения анти-ТТГр антител, в которой сывороточные антитела пациента подавляют связывание меченных тиреоидстимулирующих антител (в большей степени, чем меченного ТТГ) с ТТГ-рецепторами [16].

В тест-системе «Elecsys Анти-ТТГр» используются растворенный свиной ТТГ-рецептор, связанный в иммунокомплексе с биотинилированными мышинными моноклональными антителами к свиным С-концевым ТТГ-рецепторам и человеческим моноклональным аутоантителом М22 в качестве леченного рутением лиганда.

Принцип теста

Принцип конкуренции. Общее время анализа: 27 минут.

- 1-я инкубация: 50 мкл образца сыворотки инкубируется с предварительно подготовленным раствором буфера (РТ1) и предварительно подготовленным реагентным буфером (РТ2), состоящим из сформированного заранее иммунокомплекса растворенных свиных ТТГ-рецепторов (сТТГр) и биотинилированных моноклональных мышинных антител к свиным ТТГ-рецепторам. Анти-ТТГр антитела из сыворотки пациента вступают в реакцию с комплексом ТТГ-рецепторов.
- 2-я инкубация: после добавления раствора буфера анти-ТТГр антитела далее реагируют с комплексом ТТГ-рецепторов.
- 3-я инкубация: после добавления покрытых стрептавидином микрочастиц и человеческого тиреоидстимулирующего моноклонального антитела (М22), меченного комплексом рутения*, выявляются связанные ТТГ-рецепторы из-за их способности подавлять связывание меченных М22. Полный комплекс формируется на твердой фазе в результате взаимодействия биотина и стрептавидина.
- Реакционная смесь аспирируется в измерительную ячейку где микрочастицы осаждаются на поверхность электрода после электромагнитного воздействия. Не связавшиеся субстанции удаляются с помощью ПроСелл (ProCell). После этого приложенное к электроду напряжение вызывает хемилюминесцентную эмиссию, которая измеряется фотоумножителем.
- Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, получаемой специальным для данного прибора способом калибровки по двум точкам, и референсной калибровочной кривой, получаемой со штрихового кода реактива.

*Комплекс трис(2,2'-бипиридил)рутения(II) ($Ru(bpy)^{2+}_3$)

Реактивы - содержание и концентрации

Упаковка реагентов

- М Микрочастицы, покрытые стрептавидином (прозрачная крышка), 1 флакон, 6,5 мл:
Микрочастицы, покрытые стрептавидином 0,72 мг/мл; консервант.
- Р1 Раствор буфера (серая крышка), 1 флакон, 7 мл:
Фосфатный буфер 20 ммоль/л, рН 7,4; стабилизаторы, консервант.
- Р2 Анти-TSHR~ $Ru(bpy)^{2+}_3$ (черная крышка), 1 флакон, 7 мл:
Моноклональные анти-TSHR антитела М22 (человека), меченные рутением

комплексом около 0,3 мг/л; фосфатный буфер 20 ммоль/л, pH 7,4; стабилизаторы, консерванты.

Калибраторы

Cal1 Анти-TSHR калибратор 1 (белая крышка), 1 флакон (лиофилизированный) 2,0 мл:
Анти-TSHR антитела (человеческие) около 1,0 МЕ/л на основе сыворотки человека.

Cal2 Анти-TSHR калибратор 2 (черная крышка), 1 флакон (лиофилизированный) 2,0 мл:
Анти-TSHR антитела (человеческие) около 25 МЕ/л на основе сыворотки человека.

Упаковка реагентов для предварительной обработки образца

PT1 Раствор буфера для предварительной обработки образца (черная крышка), 1 флакон, 4 мл:

Фосфатный буфер 20 ммоль/л, pH 7,4; стабилизаторы, консервант.

PT2 Пустой флакон (белая крышка) для реагента для предварительной обработки образца (PTR), растворенного в буфере для предварительной обработки образца (PTB)

PTR Реагент для предварительной обработки образца, сTSHR-анти-сTSHR-антитело~биотин комплекс (белая крышка), 1 флакон 4 мл PTB:

Фосфатный буфер 40 ммоль/л, pH 7,2; стабилизаторы.

PTB Буфер для предварительной подготовки образца (белая крышка), 1 флакон, 5 мл:

Раствор для разведения PTR; фосфатный буфер 10 ммоль/л, pH 7,2; стабилизатор.

Предосторожности и предупреждения

Применять только для диагностики *in vitro*.

Соблюдать обычные правила предосторожности, необходимые при работе со всеми лабораторными реактивами.

Использованные расходные материалы и отходы должны обрабатываться по общепринятым в лаборатории правилам.

По запросу можно получить перечень профессиональных правил защиты при работе в лаборатории.

Все материалы человеческого происхождения необходимо рассматривать как потенциально инфицированные.

Все дериваты крови изготовлены исключительно из крови доноров, которые были индивидуально протестированы одобренными FDA или Европейскими директивами (European Directive 98/79/EC, Annex II, List A.) на отсутствие HBsAg, антител к HCV и ВИЧ. Результаты были отрицательными.

Однако, поскольку до настоящего времени не существует абсолютно достоверных методик исключения потенциального риска инфицирования крови работать с реактивами следует с такими же предосторожностями, как и с сыворотками пациентов. В случае контакта с реактивами или сывороткой необходимо следовать соответствующим инструкциям по охране здоровья персонала.

Избегать образования пены на всех видах реагентов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Работа с реактивами

Реактивы в наборе (M, R1 и R2) собраны в готовом к употреблению виде и поставляются во флаконах, совместимых с анализаторами.

Калибраторы

Осторожно растворить содержимое одного флакона в точно 2,0 мл дистиллированной воды. Выдержать закрытый флакон в течение 15 минут для полного растворения содержимого. Осторожно перемешать, избегая образования пены. Перенести необходимое количество растворенного калибратора в пустые маркированные флаконы с закрывающимися крышками

(CalSet Vials). Наклеить этикетки на дополнительные флаконы. Поместить аликвоты сразу после приготовления при -20°C. Выполнять только одну калибровку на аликвоту. Вся информация, необходимая для правильной работы, считывается автоматически со штрихового кода реактива.

Упаковка с реагентами для предварительной подготовки образца

Реагенты в упаковке с реактивами для предварительной подготовки образца требуют подготовки к работе. См. раздел «Подготовка рабочих растворов» для получения детальной информации.

Важное примечание

Упаковка с реагентами для предварительной подготовки образца и упаковка с основными реагентами поставляются в одном наборе и должны использоваться как единый комплект. Для предупреждения ошибок в использовании компонентов набора сразу же после вскрытия упаковки необходимо делать соответствующие пометки на каждом флаконе набора (водостойким маркером).

MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e601 анализаторы:

Упаковка с реагентами для предварительной подготовки образца и упаковка с основными реагентами в тест-системе «Elecsys Анти-ТТГр» в настоящее время не связаны программой анализаторов (v07-0x и v08-02 для MODULAR ANALYTICS E170, v01-0x и 02-01 для cobas e 601). В соответствии с рекомендациями **только** одна упаковка с реагентами для предварительной подготовки образца и одна упаковка с основными реагентами может быть размещена в модуле анализатора MODULAR ANALYTICS E170 и на анализаторе! Соответствующие изменения в программе анализаторов будут сделаны в 2008 году.

Подготовка рабочих растворов

Растворение реагентов для предварительной подготовки образца (PTR, белая крышка) с использованием буфера (PTB, белая крышка):

Аккуратно растворить содержимое флакона с лиофилизированным реагентом для предварительной подготовки (PTR) добавив точно 4,0 мл буфера (PTB). Оставить на 60 минут, периодически аккуратно перемешивать на ротационной мешалке до полного растворения.

Перенести рабочий раствор PTR/PTB в пустой флакон (PT2; белая крышка). Избегать образования пены!

Хранение и стабильность

Хранить при 2-8°C.

Хранить реагенты тест-системы «Elecsys Анти-ТТГр» (M, R1, R2) в вертикальном положении, для того, чтобы было гарантирована полная сохранность и доступность микрочастиц при автоматическом перемешивании в процессе работы.

<i>Стабильность основных реагентов</i>	
Не вскрытые при 2-8°C	До окончания срока годности, указанного на упаковке
После вскрытия при 2-8°C	4 недели
На анализаторах	2 недели

<i>Стабильность калибраторов</i>	
Лиофилизированные калибраторы	До окончания срока годности, указанного на упаковке
Растворенные калибраторы	
На анализаторах при 20-25°C	3 часа

При -20°C	3 месяца (допускается только однократное замораживание)
После размораживания	Использовать только однократно

Хранить калибраторы вверх крышками. Убедиться, что раствор калибратора не остался на поверхности открытых крышек.

<i>Стабильность реагентов для предварительной подготовки образца</i>	
Не вскрытые при 2-8°C	До окончания срока годности, указанного на упаковке
После растворения (PT2) при 2-8°C	2 недели (см. ниже)
После вскрытия на анализаторах	максимум 5 x 8 часов при 15-25°C при попеременном хранении в холодильнике (до 2-х недель) и на анализаторе

Примечание: упаковку с реагентами для предварительной подготовки образца (PT2, содержащий растворенный PTR) необходимо обязательно хранить в холодильнике, в то время пока она не используется в ходе анализа.

Сбор и подготовка образцов

Тестируются только образцы, перечисленные ниже и приняты как пригодные для использования.

Сыворотка, собранная с использованием стандартных пробирок для сбора образцов или пробирок, содержащих разделительный гель.

Не использовать липемические и гемолизированные образцы.

Образцы стабильны в течение 3 дней при 2-8°C и по крайней мере один месяц при - 20°C. Разрешается только однократное замораживание.

Все перечисленные виды образцов были проанализированы в различных типах пробирок, которые можно было приобрести во время процесса тестирования. Пробирки не всех производителей были исследованы. Пробирки для сбора образца некоторых производителей могут содержать различные материалы, которые могут повлиять на получаемый результат в некоторых случаях. Для информации о стабильности сыворотки, полученной в первичных пробирках, обращайтесь к инструкциям производителя пробирок.

Образцы, содержащие осадок, должны быть отцентрифугированы перед проведением анализа. Не использовать термически инактивированные образцы. Нельзя использовать образцы и контроли, стабилизированные азидом.

Перед измерением выдержать сыворотки пациентов, Калибраторы и Контроли при температуре окружающей среды 20 - 25°C.

Из-за возможного эффекта испарения образцы, калибраторы и контроли следует измерять на анализаторе в пределах 2-х часов.

Материалы необходимые для проведения анализа

Предоставляемые материалы

См. раздел "Реактивы - содержание и концентрации".

- 2 x 6 этикеток для флаконов

Необходимые (но не предоставляемые) материалы

- кат. № 05042666190, Набор контрольных сывороток для определения тиреоидных антител «PreciControl ThyroAB» - «Контроль ТиреоАт», по 1 фл. x 2 мл для двух уровней: «Контроль ТиреоАт» 1 и 2.
- кат. № 11776576322, Elecsys CalSet Vials, 2x56 пустых флаконов с крышками для Калибраторов
- Обычное лабораторное оборудование

- Автоматические анализаторы Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 или cobas e analyzer
- Дистиллированная вода.
Вспомогательные материалы для Elecsys 2010 и cobas e 411
- кат. № 11662988122, Elecsys ProCell, 6 x 380 мл -системный буфер
- кат. № 11662970122, Elecsys CleanCell, 6 x 380 мл- раствор для промывки измерительной ячейки
- кат. № 11930346122, Elecsys SysWash, 1x500 мл- чистящий раствор для добавления в дистиллированную воду
- кат. № 11933159001, адаптер для SysClean
- кат. № 11706802001, Elecsys 2010 пробирки для анализа, 60 x 60 реакционных пробирок
- кат. № 11706799001, Elecsys 2010 наконечники для анализа, 30 x 120 наконечников для пипеток
Вспомогательные материалы для MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601
- кат. № 04880340190, ProCell M, 2x2 л - системный буфер
- кат. № 04880293190, CleanCell M, 2x2 л - раствор для промывки измерительной ячейки
- кат. № 03023141001, PC/CC-Cups -12 пробирок для предварительного нагревания ProCell M и CleanCell M
- кат. № 03005712190, ProbeWash M, 12x70мл - раствор для промывки на финальном этапе работы и при замене реактива
- кат. № 03004899190, PreClean M, 5 x 600 мл – раствор для промывки аналитической пробы перед оценкой результата анализа
- кат. № 12102137001, Assay Cups/Assay Tips Combimagazine M - 48 упаковок по 84 реакционные пробирки и 84 наконечника для дозатора, мешки для отходов
- кат. № 03023150001, WasteLiner, мешки для отходов
- кат. № 03027651001, Адаптор для SysClean M
Вспомогательные материалы для любых анализаторов
- кат. № 11298500316, Elecsys SysClean, 5x100 мл - средство для промывки системы

Анализ

Для оптимального проведения анализа важно следовать указаниям по работе с используемым анализатором. Обращайтесь к соответствующим инструкциям для оператора к анализатору и реагентам.

Перемешивание микрочастиц перед использованием и считывание специфических для анализа параметров со штрихового кода реактива происходит автоматически. Нет необходимости в ручном вводе. Если в исключительных случаях невозможно считать штриховой код, ввести 15-цифровую последовательность чисел.

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e: Довести охлажденные реактивы до температуры примерно 20°C и поместить на диск для реактивов анализатора. Избегать пенообразования. Система **автоматически** регулирует температуру реактивов и открытие/закрытие флаконов.

Поместить растворенные Калибраторы 1 и 2 в зону образцов анализатора. Выполнить только одну калибровку на аликвоту.

Калибровка

Стандартизация: Данный метод стандартизован по отношению к 1-му Международному Стандарту 90/672 Национального института Биологических стандартов и контролей (NIBSC - 1st IS 90/672 Standard).

Каждый набор реагентов «Elecsys Анти-ТТГр» имеет этикетку со штрих-кодом, содержащим специфическую информацию, необходимую для калибровки соответствующей серии

реагентов. Результаты предварительно выполненной референсной калибровки адаптируются анализатором при анализе калибраторов 1 и 2 (Cal1 и Cal2) тест-системы «Elecsys Анти-ТТГр».

Частота калибровки: Калибровку следует выполнять для каждой упаковки комплекта реагентов/реагентов для предварительной подготовки образца.

Повторная калибровка для всех типов анализатора:

- Ежедневно
- При необходимости: если показатели контроля качества не укладываются в доверительный интервал

Контроль качества

Использовать «Контроль ТиреоАт» 1 и 2 и другие соответствующие контроли.

Контроли для различных диапазонов концентраций должны исследоваться как одиночные определения минимум один раз каждые 24 часа при использовании теста, один раз для каждой новой упаковки реактивов и после каждой калибровки. Интервалы между контролями должны соответствовать требованиям конкретных лабораторий. Полученные значения должны находиться в пределах установленных диапазонов.

Каждая лаборатория должна выработать правила, позволяющие принять корректирующие меры, если значения выходят за пределы диапазона.

Расчет результатов

Анализаторы автоматически рассчитывают концентрацию аналита в каждом образце в МЕ/л.

Ограничения - интерференция

На анализ не влияют желтуха (билирубин < 667 мкмоль/л или < 39 мг/дл), гемолиз (гемоглобин $< 0,621$ ммоль/л или < 1 г/дл), липемия (интралипид < 2000 мг/дл) и биотин < 49 нмоль/л или < 12 нг/мл.

Критерий: открытие пределах $\pm 10\%$ начального значения.

Повышенные результаты были получены в образцах с концентрацией биотина > 49 нмоль/л или > 12 нг/мл.

У пациентов, получающих лечение высокими дозами биотина (> 5 мг/день), следует брать пробы не раньше, чем через 8 часов после последнего введения биотина.

Не обнаружено влияние ревматоидного фактора при концентрации до 1000 МЕ/мл.

Проведены тесты *in vitro* на 20 наиболее распространенных лекарственных препаратах. Влияния на результаты анализа при этом не обнаружено для всех препаратов, кроме гепарина. Возможное нежелательное влияние на результаты, возникающее при иммунологическом взаимодействии между компонентами набора и редкими сыворотками, сведено к минимуму за счет использования соответствующих дополнительных веществ.

В редких случаях может происходить интерференция, обусловленная очень высокими титрами антител к стрептавидину и рутению. Тест-система содержит дополнительные компоненты, сводящие к минимуму такие эффекты.

Для диагностических целей результаты анализа всегда следует рассматривать в совокупности с историей болезни пациента, результатами клинического обследования и другими данными.

Диапазон измерения

0,3-40 МЕ/мл (определено по значению чувствительности и максимальной точке референсной калибровочной кривой). Значения ниже чувствительности метода сообщаются как $< 0,3$ МЕ/мл. Значения выше верхнего предела измерения сообщаются как > 40 МЕ/мл.

Разведение

Образцы с концентрацией анти-ТТГр выше диапазона измерения можно развести в ручную сывороткой человека не содержащей эти антитела. Рекомендуется разведение 1:5 или 1:10.

Концентрация разводимого образца должна быть выше > 4 МЕ/л. После разведения необходимо полученный результат умножить на фактор разведения.

Примечание: Данные антитела являются гетерогенными и при разведении отдельных образцов может возникнуть феномен нелинейности.

Ожидаемые значения

При анализе 145 практически здоровых лиц и пациентов с заболеваниями щитовидной железы (91- подострый тиреоидит, 45-аденоматозный зоб, 27-болезнь Хашимото, 32 безболевого тиреоидит, 7 автономно функционирующие тиреоидные узлы, 1-токсический многоузловой зоб, 7-другие) был выявлен дискриминационный уровень (Д/У) 1,75 МЕ/л. Данный Д/У был проверен (подтвержден) при обследовании 102 пациентов с не леченной болезнью Грейвса. При использовании этого Д/У (cutoff) чувствительность теста составила 96% а специфичность 99%, что было продемонстрировано при анализе ROC кривой (Receiver Operating Characteristic; AUC = 0.99).

Показатели $< 1,5$ МЕ/л рассматриваются как отрицательные по анти-ТТГр аутоантителам, значения между 1,5-1,75 МЕ/л – как промежуточные, и концентрации $> 1,75$ МЕ/л – как положительные по анти-ТТГр аутоантителам.

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых результатов на собственных пациентов и в случае необходимости определить свои собственные нормативные диапазоны.

Аналитические характеристики

Ниже приведены репрезентативные данные, полученные на автоматических анализаторах линии Elecsys. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут несколько различаться.

Воспроизводимость (точность)

Воспроизводимость определяли с использованием реактивов Elecsys, пулов человеческой сыворотки и контролей в соответствии с модифицированным протоколом (EP5-A) Национального комитета клинических лабораторных стандартов (NCCLS): 6 раз в день в течение 10 дней ($n=60$); воспроизводимость внутри анализа на MODULAR ANALYTICS E170 рассчитана при $n=21$. Результаты анализа представлены ниже.

Анализаторы Elecsys 2010 и cobas e 411					
Образец	Среднее значение	Воспроизводимость внутри постановки		Общая воспроизводимость	
		SD	CV	SD	CV
	МЕ/л	МЕ/л	%	МЕ/л	%
Сыворотка человека 1	2.72	0.127	4.7	0.152	5.6
Сыворотка человека 2	10.9	0.147	1.4	0.221	2.0
Сыворотка человека 3	25.1	0.241	1.0	0.312	1.3
«Контроль ТиреоАт» 1	4.76	0.122	2.6	0.162	3.4
«Контроль ТиреоАт» 2	18.8	0.340	1.8	0.356	1.9

Анализаторы MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601

Образец	Воспроизводимость внутри постановки			Общая воспроизводимость		
	Среднее значение	SD	CV	Среднее значение	SD	CV
	МЕ/л	МЕ/л	%	МЕ/л	МЕ/л	%
Сыворотка человека 1	2.45	0.127	5.2	2.87	0.149	5.2
Сыворотка человека 2	10.6	0.162	1.5	11.0	0.184	1.7
Сыворотка человека 3	22.8	0.218	1.0	25.1	0.292	1.2
«Контроль ТиреоАт» 1	4.59	0.094	2.0	4.69	0.141	3.0
«Контроль ТиреоАт» 2	18.8	0.165	0.9	18.7	0.228	1.2

Аналитическая чувствительность (нижний предел обнаружения)

Около 0,3 МЕ/л.

Предел обнаружения представляет собой самую низкую концентрацию аналита, которая может быть обнаружена как отличная от нуля. Она вычисляется как концентрация, лежащая на два стандартных отклонения выше самого нижнего стандарта (эталонный калибратор, стандарт $1 + 2 \text{ SD}$ (Станд. откл.), сходимость в пределах анализа, $n = 21$).

Сравнение метода

Сравнение методов «Elecsys Анти-ТТГр» (y) с коммерчески доступными радиоизотопными методами определения Анти-ТТГр (x) с использованием клинических образцов сывороток дало следующие корреляции:

Число исследованных образцов: 221

Passing/Bablok¹⁷

$$y = 1,10x + 0,02$$

$$r = 0,789$$

Линейная регрессия

$$y = 0,95x + 0,76$$

$$r = 0,939$$

Концентрации в образцах сыворотки находились в диапазоне около 0,434 и 35,3 МЕ/л.

Аналитическая специфичность

Не обнаружено влияния на анализ со стороны человеческих аутоантител к тиреоглобулину ($< 4000 \text{ МЕ/мл}$) и к анти-ТПО ($< 600 \text{ МЕ/мл}$).

Также не выявлено интерференции с человеческим ТТГ ($< 1000 \text{ мМЕ/л}$), человеческим ЛГ ($< 10000 \text{ мМЕ/мл}$), человеческий ФСГ ($< 10000 \text{ мМЕ/мл}$) и ХГЧ ($< 50000 \text{ мМЕ/мл}$).

Функциональная чувствительность

Около 0,9 МЕ/л.

Функциональная чувствительность - это наименьшая концентрация аналита, которая может быть воспроизведена с коэффициентом вариации $\leq 20\%$.

Ссылки:

1. Pfannenstiel P, Saller B. Schilddrüsenkrankheiten - Diagnose und Therapie, 2nd edition. Berliner Medizinische Verlagsanstalt. 1995;28-30,141,169-172,200-201.
2. McIntosh RS, Asghar MS, Weetman AP. The antibody response in human autoimmune thyroid disease. Clin Sci 1997;92:529-541.
3. Schott M, Seißler J, Scherbaum WA. Diagnostic testing for autoimmune thyroid diseases. J Lab Med 2006;34(4):254-257.

4. Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. *Clin Chem* 1996;42(1):160-163.
 5. Rapoport B, Chazenbalk GD, Jaume JC, McLachlan SM. The thyrotropin (TSH) receptor: interaction with TSH and autoantibodies. *Endocrine Reviews* 1998;19(6):673-716.
 6. Farid NR, Szkudlinski MW. Minireview: structural and functional evolution of the thyrotropin receptor. *Endocrinology* 2004;145(9):4048-4057.
 7. Quadbeck B, Hoermann R, Roggenbuck U, Hahn S, Mann K, Janssen OE, Basedow Study Group. Sensitive thyrotropin and thyrotropin-receptor antibody determinations one month after discontinuation of antithyroid drug treatment as predictors of relapse in Graves' disease. *Thyroid* 2005;15:1047-1054.
 8. Okamoto Y, Tanigawa SI, Ishikawa K, Hamada N. TSH receptor antibody measurements and prediction of remission in Graves' disease patients treated with minimum maintenance doses of antithyroid drugs. *Endocr J* 2006;53(4):467-472.
 9. Zöphel K, Wunderlich G, Kopprasch C, Koch R, Franke WG, Kotzerke J. Predictive value of thyrotropin receptor antibodies using the second generation TRAb human assay after radioiodine treatment in Graves' disease. *Nuklearmedizin* 2003;42:63-70.
 10. Bolton J, Sanders J, Oda Y, Chapman C, Konno R, Furmaniak J, Rees Smith B. Measurement of thyroid-stimulating hormone receptor autoantibodies by ELISA. *Clin Chem* 1999;45:2285-2287.
 11. Costagliola S, Morgenthaler NG, Hoermann R, Badenhop K, Struck J, Freitag D, Poertl S, Weglöhner W, Hollidt JM, Quadbeck B, Dumont JE, Schumm-Draeger PM, Bergmann A, Mann K, Vassart G, Usadel KH. Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:90-97.
 12. Kamijo K. TSH receptor antibody measurement in patients with various thyrotoxicosis and Hashimoto's thyroiditis: a comparison of two two-step assays, coated plate ELISA using porcine TSH-receptor and coated tube radioassay using human recombinant TSH-receptor. *Endocr J* 2003;50(1):113-116.
 13. Zöphel K, Wunderlich G. Predictive value of TSH receptor antibody measurement in Graves' disease is independent on the TSH receptor (human or porcine) but depends on the generation of the assay used. *Endocr J* 2006;53(6):869-870.
 14. Sanders J, Evans M, Premawardhana LDKE, Depraetere H, Jeffreys J, Richards T, Furmaniak J, Rees Smith B. Human monoclonal thyroid stimulating autoantibody. *Lancet* 2003;362:126-128.
 15. Sanders J, Jeffreys J, Depraetere H, Evans M, Richards T, Kiddie A, Brereton K, Premawardhana LDKE, Chirgardze DY, Núñez Miguel R, Blundell TL, Furmaniak J, Rees Smith B. Characteristics of a human monoclonal autoantibody to the thyrotropin receptor: sequence, structure and function. *Thyroid* 2004;14:560-570.
 16. Rees Smith B, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. *Thyroid* 2004;14:830-835.
 17. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.
- Для получения более подробной информации обращайтесь к соответствующим инструкциям к анализаторам и всем необходимым компонентам, используемым в работе.

COBAS, COBAS E, ELECSYS и MODULAR являются торговой маркой членов группы компаний Roche. Другие бренды являются торговыми марками других соответствующих компаний. INTRALIPID - торговая марка компании «KabiPharmacia, Inc.».

©2007 Roche Diagnostics.

№2
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»

М. Петрович

«28» января 2008г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Контрольные
сыворотки для определения анти-тиреоидных антител (Elecsys
PreciControl Thyro-AB)

PreciControl ThyroAB

Контроль ТиреоАТ

Для анализаторов Elecsys и cobas e

05042666 190

2 фл.х 2.0 мл

Назначение

«Elecsys Контроль ТиреоАТ» предназначен для контроля качества тест-системы «Elecsys Анти-ТТГр» для электрохемилюминесцентного анализа на иммунохимических анализаторах Elecsys и cobas e.

Общая информация

«Elecsys Контроль ТиреоАТ» представляет собой лиофилизированную контрольную сыворотку в двух диапазонах концентраций на основе сыворотки человека. Контроли применяются для мониторинга точности и воспроизводимости иммунотеста «Elecsys Анти-ТТГр».

Реактивы – содержание и концентрации

- PC Thyro1 - - Elecsys Контроль ТиреоАТ 1: - 1 флакон, содержащий 2 мл контрольной сыворотки
Сыворотка человека, содержащая анти-ТТГр антитела (человека), около 4 МЕ/л.
- PC Thyro 2 - - Elecsys Контроль ТиреоАТ 2: - 1 флакон, содержащий 2 мл контрольной сыворотки
Сыворотка человека, содержащая анти-ТТГр антитела (человека), около 16 МЕ/л.

Точные значения диапазонов измерения закодированы в штриховых кодах или доступны в электронном виде.

Точные значения и диапазоны

Точные значения и диапазоны, закодированные в штриховых кодах, определены и рассчитаны Roche. Они были получены при использовании реактивов набора «Elecsys Контроль ТиреоАТ» и доступных на момент исследования анализаторов.

Если целевые концентрации и контрольные диапазоны изменялись в последнее время то информация об этих изменениях вносится в штрих-коды реагентов или в листы со штрих-кодами, которые вкладываются в упаковки с реагентами. В такие листы включены все серии контрольных сывороток с измененными целевыми концентрациями и контрольными диапазонами. Если какой-либо из показателей остался неизменным, то исходные данные вводятся в память прибора со штрих-кода контроля и листа со штрих-кодами, вложенного в упаковку с контролями (можно получить в электронном виде)

Результаты должны находиться в пределах указанного в спецификации интервала. При появлении тенденции к увеличению или снижению значений или при неожиданном отклонении результатов за пределы установленных лимитов все этапы теста должны быть проверены. В случае необходимости следует повторно проанализировать образцы пациентов. Информация о стандартизации находится в инструкции к соответствующей тест-системе.

Каждая лаборатория должна выработать правила, позволяющие принять корректирующие меры, если значения выходят за пределы диапазона.

Меры предосторожности

Применять только для диагностики in vitro.

Соблюдать обычные правила предосторожности, необходимые при работе со всеми лабораторными реактивами.

Удалять отработанные материалы в соответствии с установленными требованиями.

По запросу может быть предоставлен перечень правил профессиональной защиты.

Все материалы человеческого происхождения следует рассматривать как потенциально инфицированные.

Все материалы человеческого происхождения изготовлены исключительно из крови доноров, которые были индивидуально протестированы одобренными FDA методами или Европейскими Директивами 98/79/ЕС (Часть II, список А) на отсутствие HBsAg, антител к HCV и ВИЧ. Результаты анализа были отрицательными.

Однако, до настоящего времени не существует абсолютно достоверных методик выявления потенциального риска инфицирования крови. Поэтому работать с реактивами следует с такими же предосторожностями, как и с сыворотками пациентов. В случае контакта с реактивами или сывороткой необходимо следовать соответствующим инструкциям по охране здоровья персонала [1, 2].

Избегать образования пены во всех типах реактивов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Работа с контролями

Осторожно растворить содержимое одного флакона, добавив точно 2,0 мл дистиллированной воды и оставить стоять закрытым в течение 15 минут до восстановления. Аккуратно перемешать. Избегать пенообразования.

Перенести растворенный калибратор в пустые маркированные флаконы с закрывающимися крышками.

Для аликвотирования перенесите контроли в дополнительные флаконы с закрывающимися крышками (Elecsys CalSet Vials), наклеить соответствующие этикетки со штрих-кодами.

Каждую аликвоту сразу же заморозить и хранить при -20°C .

Выполнять только одну калибровку на аликвоту.

Хранение и стабильность

Хранить при $2 - 8^{\circ}\text{C}$.

При этой температуре лиофилизированная контрольная сыворотка стабильна до окончания указанного срока годности.

Компоненты восстановленной контрольной сыворотки стабильны:

На анализаторе при $20-25^{\circ}\text{C}$	до 3 часов
При -20°C	3 месяца (только однократное размораживание)
После размораживания	Использовать однократно

Методика

Предоставляемые материалы

- «Elecsys Контроль ТиреоАТ», 2 карты со штриховым кодом, лист со штрих-кодом, 2 x 2 пустых промаркированных флакона с крышками, 2 x 6 этикетки для флаконов.

Необходимые (но не предоставляемые) материалы

- № по каталогу 11776576322, CalSet Vials, 2 x 56 пустых флаконов с обжимными крышками.
- Система для иммуноанализа Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 или cobas e и реактивы для анализа. Дополнительные необходимые материалы указаны в соответствующих вкладышах в упаковку и в инструкции для оператора.
- дистиллированная или деионизированная вода

Анализ

Для использования на всех типах анализаторов перенести необходимый объем восстановленной контрольной сыворотки в прилагаемые промаркированные флаконы с обжимными крышками и провести анализ таким же образом, как и образцов, полученных у пациента. Введите информацию, имеющуюся на этикетке со штриховым кодом и на картах со штриховым кодом в анализатор.

185

Убедиться, что контроли имеют комнатную температуру (20-25°C) перед исследованием. Анализировать контроли ежедневно параллельно с полученными у пациента образцами и каждый раз при проведении калибровки. Интервалы между контролями должны быть адаптированы к требованиям конкретных лабораторий.

Ссылки

1. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.
2. Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities No. L262 from Oct. 17, 2000.

Для получения более подробной информации обращайтесь к соответствующим инструкциям к анализаторам и всем необходимым компонентам, используемым в работе.

СЩИФЫБ СЩИФЫ УБ УДУСЫНЫ и ЬЩВГДФК являются торговой маркой Кшсрюю
Другие бренды являются торговыми марками других соответствующих производителей.
©2007 Roche Diagnostics.

106
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»

М. Петрович

«28» января 2008г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Контрольная сыворотка для маркеров материнского скрининга (Elecsys PreciControl Maternal Care)

PreciControl Maternal Care

Контрольная сыворотка для маркеров материнского скрининга

Для анализаторов Elecsys и cobas e

04899881 200

6 флаконов x 2,0 мл

Назначение

«Elecsys Контрольная сыворотка для маркеров материнского скрининга» предназначена для контроля качества тестов «Elecsys PAPP-A» и «Elecsys свободный β -ХГЧ» на иммунохимических анализаторах Elecsys и cobas e.

Общая информация

«Elecsys Контрольная сыворотка для маркеров материнского скрининга» состоит из лиофилизированной сыворотки человека в трех диапазонах концентраций. Контрольная сыворотка используется для мониторинга точности тест-систем «Elecsys PAPP-A» и «Elecsys свободный β -ХГЧ».

Калибровочный набор может быть использован со всеми сериями реагентов.

Реактивы – содержание и концентрации

- РС МС1 – КС ММС 1: 2 флакона по 2.0 мл контрольной сыворотки;
- РС МС2 – КС ММС 2: 2 флакона по 2.0 мл контрольной сыворотки;
- РС МС3 – КС ММС 3: 2 флакона по 2.0 мл контрольной сыворотки.

Субстанция в матриксе сыворотки человека	КС ММС 1	КС ММС 2	КС ММС 3	Единицы
свободный β -ХГЧ	~ 15	~ 50	~ 100	МЕ/л
PAPP-A	~ 5000	~ 2500	~ 250	мМЕ/л

Точные значения целевых концентраций и диапазонов строго специфичные для каждой серии, закодированы в штриховом коде (или доступны по электронной почте) и обозначены на этикетке со штриховым кодом калибратора.

Целевые концентрации и диапазоны

Целевые концентрации и диапазоны были определены и рассчитаны компанией Roche. Они были получены с использованием тест-систем и анализаторов линии Elecsys доступных в тот период времени.

Если целевые концентрации и контрольные диапазоны будут адаптированы в более поздние время эту информацию внесут в штрих-коды и листы со штрих-кодами, вкладываемые в набор реагентов. В такие листы вносятся все серии контролей с новыми показателями. Если какие-либо показатели останутся неизменными, то их оригинальные значения будут внесены в СВС (Control Barcode – штри-код контрольной сыворотки) и листы со штрих-кодами в упаковку с контрольными сыворотками (или будут доступны по электронной почте) до конца срока годности серии контроля.

Полученные результаты контроля качества должны находиться в пределах сообщенных специфических диапазонов. Если получены результаты не укладывающиеся в заданные диапазоны, то необходимо проверить все этапы анализа. Данные по воспроизводимости теста указаны в инструкции по применению, которая вкладывается в соответствующий набор реагентов Elecsys.

Каждая лаборатория должна произвести корректирующие меры в работе с тестом, если были получены результаты контроля качества, выходящие за пределы заданных диапазонов.

Меры безопасности

Предназначается для диагностики *in vitro*.

Принимайте обычные меры безопасности, требуемые для обращения со всеми лабораторными реактивами.

Расходные материалы и все отходы должны обрабатываться по принятым в лаборатории правилам.

Возможно предоставление перечня мер по безопасности для профессионального использования по запросу.

Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфицированные.

Материалы человеческого происхождения проверены на ВИЧ и гепатиты В и С и были отрицательны.

Применялись методы, одобренные FDA или Европейскими директивами (European Directive 98/79/EC, Annex II, List A.).

Однако, поскольку никакими методами обследования нельзя с полной уверенностью исключить потенциальный риск заражения, с этим материалом следует обращаться столь же осторожно, как с пробами сыворотки крови пациентов. В случае загрязнения нужно следовать директивам соответствующих органов здравоохранения [1, 2].

Реактивы не должны использоваться после истечения указанного срока годности.

Избегать образования пены во всех типах реагентов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Работа с контрольными сыворотками

Осторожно растворить содержимое одного флакона, добавив 2,0 мл дистиллированной воды и оставить стоять закрытым в течение 30 минут до восстановления. Аккуратно перемешать, избегая образования пены.

Перенести восстановленный калибратор в содержащиеся в наборе пустые флаконы с обжимной крышкой (CalSet Vials). Наклеить этикетки на дополнительные флаконы. Быстро убрать аликвоты в холодильник и хранить при -20°C.

Хранение и стабильность

Хранить при 2-8°C.

Лиофилизированные контроли стабильны до окончания указанного срока годности.

Стабильность растворенных контрольных сывороток:

при -20°C	3 месяца (только однократное замораживание)
при 2-8°C	8 недель
на анализаторах при 20-25°C	до 5 часов
после размораживания	использовать однократно

Предоставляемые материалы

• «Elecsys Контрольная сыворотка для маркеров материнского скрининга», 3 карты со штрих-кодами, лист со штрих-кодами, 3 x 2 флакона с крышками и наклеенными этикетками, 3 x 6 этикеток для флаконов

Необходимые (но не предоставляемые) материалы

- Кат. № 11776576322, Elecsys CalSet Vials, 2 x 56 пустых флаконов с обжимными крышками.
- Анализаторы Элексис 2010, МОДУЛАР E170 или cobas e. Дополнительные необходимые материалы указаны во вкладыше к реагентам и в инструкции для оператора для анализаторов.
- Дистиллированная или деионизированная вода.

Инструкции по применению

Растворенные контрольные сыворотки используются в анализаторе таким же образом, как образцы сыворотки крови пациентов. Вся информация, необходимая для калибровки теста, закодирована на прилагаемой карте со штриховым кодом, в штриховом коде реактива и в штриховом коде на этикетке флакона; она автоматически считывается анализатором.

Убедиться, что контроли прогреты до комнатной температуры (20-25°C) перед употреблением.

Выполнять контроль качества следует ежедневно параллельно с образцами, на каждую новую упаковку реагентов и в случае выполнения калибровки. Контрольные интервалы должны быть адаптированы для нужд каждой конкретной лаборатории.

Ссылки

1. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.
2. Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities No. L262 from Oct. 17, 2000.

Для получения более подробной информации обращайтесь к соответствующим инструкциям к анализаторам и всем необходимым компонентам, используемым в работе.

COBAS, COBAS E, ELECSYS и MODULAR являются торговыми марками Roche. Другие бренды и наименования продукции являются торговыми марками других производителей.

©2007 Roche Diagnostics.

110

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»

М. Петрович

«28» января 2008г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения: Набор реагентов для определения свободного б-ХГЧ (б-хорионического гонадотропина человека) (Elecsys Free b-HCG)

free β –hCG

свободный β –ХГЧ

free β -subunit of human chorionic gonadotropin

свободная β -субъединица хорионического гонадотропина человека

Анализаторы Elecsys и cobas e

04854071 200

100 tests

• Тест-система предназначена для анализаторов:

Elecsys 2010

MODULAR ANALYTICS E170

cobas e 411

cobas e 601

Внимание! Концентрация свободного β -ХГЧ в пробах может значительно варьировать в зависимости от применяемого метода исследования. Бланк с полученными в лаборатории показателями обязательно должен содержать информацию об используемом методе определения свободного β -ХГЧ. Уровни свободного β -ХГЧ в образце сыворотки крови пациента, полученные различными методами не могут сравниваться напрямую друг с другом, так как могут привести к диагностической ошибке.

Если требуется замена теста для определения свободного β -ХГЧ пациенту в процессе мониторинга проводимой терапии, то следует произвести параллельное определение концентрации свободного β -ХГЧ новым и старым методом для сопоставления показателей.

Назначение

Тест-система для количественного определения in vitro свободного β -ХГЧ (свободная β -субъединица хорионического гонадотропина человека) в сыворотке крови человека. Набор «Elecsys свободный β -ХГЧ» применяется как один из компонентов в комплексе параметров для оценки риска трисомии 21 (синдром Дауна) у плода в первом триместре беременности. Для диагностики требуется дальнейшее обследование на наличие хромосомных aberrаций. Электрохемилюминесцентный иммунотест «ECLIA - ЭХЛА» предназначен для использования на иммунохимических анализаторах Elecsys и cobas e.

Общая информация

Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) является представителем семейства гликопротеинов (~37 kDa) и состоит из двух нековалентно связанных субъединиц (α - и β -цепей, ~15 и 22 kDa соответственно). Данный белок продуцируется тканью трофобласта и обеспечивает развитие желтого тела в течение первых недель беременности. Он также влияет на образование стероидов [1,2].

В норме ХГЧ появляется только в крови и моче беременных женщин. Его концентрация повышается экспоненциально в первом триместре беременности и достигает своего пика около 10-й недели гестации. В дальнейшем уровень гормона снижается в сроке между 10-й и 16-й неделями приблизительно на 1/5 часть от пиковой концентрации и остается на таком уровне до родов. У небеременных женщин ХГЧ может продуцироваться трофобластическими и нетрофобластическими опухолями, эмбриональными клеточными опухолями с трофобластическими компонентами [2,3,4,5].

Сыворотка крови беременных женщин в основном содержит интактный ХГЧ. Однако, мелкие фракции α - и β -субъединиц циркулируют в несвязанной форме. Пропорция свободного β -ХГЧ составляет около 1% от уровня интактного ХГЧ. В результате процесса деградации белка в крови и моче могут выявляться другие варианты ХГЧ (например:

скрещенный ХГЧ, скрещенный β -ХГЧ, β -ядерный фрагмент). Однако, только интактная форма гормона биологически активна [2,6].

В настоящее время хорошо известно, что концентрация свободного β -ХГЧ в сыворотке является надежным маркером фетальной анеуплоидии. Во многих исследованиях было подтверждено, что показатели свободного β -ХГЧ в комбинации с показателями ассоциированного с беременностью плазменного протеина А (РАРР-А) и ультразвуковым исследованием (УЗИ) толщины воротникового пространства у плода (nuchal translucency - NT) являются маркером выбора для идентификации повышенного риска беременности плодом с синдромом Дауна в первом триместре беременности (11-14 недели) [7]. Было сообщено, что использование такой комбинации маркеров позволяет идентифицировать патологию в 70% случаев (только по сывороточным маркерам) и в 90% - в комбинации с УЗИ, при этом получено 5% ложно положительных результатов [8,9,10].

Пониженные значения свидетельствуют об угрожающем аборте или несостоявшемся выкидыше, внематочной беременности, гестозе или внутриутробной гибели плода.

У женщины, беременной плодом с синдромом Дауна, уровень свободного β -ХГЧ превышает показатель медианы на данный срок нормальной беременности [11].

С учетом возраста беременной можно рассчитать риск синдрома Дауна у плода по специфическому алгоритму, например базируясь на коэффициент вероятности [12].

Принцип теста

Принцип сэндвича. Общая продолжительность анализа: 18 минут.

- 1-ая инкубация: 10 мкл образца, биотинилированное моноклональное специфическое к свободному β -ХГЧ антитело и моноклональное специфическое к свободному β -ХГЧ антитело, меченное комплексом рутения*, реагируют с образованием «сэндвич»-комплекса.
- 2-я инкубация: после добавления покрытых стрептавидином микрочастиц комплекс связывается с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина.
- Реакционная смесь аспирируется в измерительную ячейку, где микрочастицы оседают на поверхность электрода вследствие магнитного взаимодействия. Затем удаляются несвязанные вещества с помощью ПроСелл (ProCell). После этого приложенное к электроду напряжение вызывает хемилюминесцентную эмиссию, которая измеряется фотоумножителем.
- Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, получаемой специальным для данного прибора способом калибровки через 2 точки, и эталонной кривой, получаемой с помощью штрихового кода реактива.

* Комплекс *трис(2,2'-бипиридил)рутения(II)* ($Ru(bpy)^{2+}_3$)

Реактивы - содержание и концентрации

М Микрочастицы, покрытые стрептавидином (прозрачная крышка), 1 флакон, 6,5 мл:
микрочастицы, покрытые стрептавидином 0.72 мг/мл, консервант.

R1 Анти-Св. β -ХГЧ -антитела~биотин (серая крышка), 1 флакон, 9 мл:
биотинилированные моноклональные анти- Св. β -ХГЧ антитела (мыши) 3,5 мг/л;
фосфатный буфер 40 ммоль/л, pH 6,8; консервант.

R2 Анти- Св. β -ХГЧ -антитела~ $Ru(bpy)^{2+}_3$ (черная крышка), 1 флакон, 10 мл:
моноклональные анти- Св. β -ХГЧ антитела (мыши), меченные комплексом рутения, 1,6 мг/л; фосфатный буфер 40 ммоль/л, pH 7,0; консервант.

Меры предосторожности

Применять только для диагностики in vitro.

Соблюдать обычные правила предосторожности, необходимые при работе со всеми лабораторными реактивами.

Проводить удаление отработанных материалов в соответствии с установленными требованиями в лаборатории.

Избегать образования пены во всех типах реагентов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Работа с реактивами

Реактивы в наборе собраны в готовом к употреблению виде и не должны разделяться. Вся информация, необходимая для правильной работы, считывается автоматически со штрихового кода реактива.

Хранение и стабильность

Хранить при 2 - 8°C.

Хранить набор реактивов «Elecsys свободный β -ХГЧ» в вертикальном положении, чтобы обеспечить полную доступность микрочастиц во время автоматического смешивания реагента перед использованием.

Стабильность:

До вскрытия при 2 - 8°C:	до окончания указанного срока годности.
После вскрытия: при 2-8°C	4 недели
На анализаторах:	4 недели

Сбор и подготовка образцов

Были протестированы и признаны пригодными к использованию только перечисленные ниже типы образцов!

Сыворотка, собранная с использованием стандартных пробирок для сбора образцов или пробирок, содержащих разделительный гель.

Не использовать плазму.

Образцы стабильны в течение 8 часов при 15-25°C, 7 дней при 2-8°C и 10 месяцев при минус 20°C.

Перечисленные типы образцов были протестированы в выборочных пробирках для сбора образцов, доступных для закупок во время проведения исследований, то есть протестированы на пригодность пробирки не всех производителей. Системы для сбора образцов могут содержать различные материалы, которые могут в отдельных случаях отрицательно повлиять на результаты теста. При использовании образцов, собранных в стандартных пробирках, обращайтесь к инструкции производителя пробирок.

Образцы, содержащие осадок, должны быть отцентрифугированы перед проведением анализа. Не использовать термически инактивированные образцы. Нельзя использовать образцы и контроли, стабилизированные азидом.

Перед измерением выдержать сыворотки пациентов, калибраторы и контроли при температуре окружающей среды 20 - 25°C.

Из-за возможного эффекта испарения образцы, калибраторы и контроли следует измерять на анализаторе в пределах 2-х часов.

Материалы необходимые для проведения анализа

Прилагаемые материалы

Смотри раздел «Реактивы – состав и концентрации»

Необходимые материалы (не прилагаются)

- Кат. № 04854080, «Elecsys свободный β -ХГЧ Калибровочный набор», 4 флакона x 1 мл
- Кат. № 04899881, PreciControl Maternal Care – контрольная сыворотка для материнского скрининга, по 3 флакона x 2 мл для PreciControl Maternal Care 1, 2 и 3.

- Кат. № 11732277, Elecsys Diluent Universal, 2 × 18 мл разбавителя для проб
- Кат. № 03183971, Elecsys Diluent Universal, 2 × 40 мл разбавителя для проб
- Кат. № 11776576, Elecsys CalSet Vials, 2 × 56, флаконы для калибраторов
- Обычное лабораторное оборудование
- Анализаторы Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 или cobas e

Для оценки риска трисомии 21:

- Кат. № 04854098, тест-система «Elecsys PAPP-A», 100 определений
- Кат. № 04854101, калибровочный набор «Elecsys PAPP-A CalSet», 4 флакона × 1 мл
- Подходящая компьютерная программа, например: Кат. № 05126193, «SsdwLab» (версия 5.0 или более)

Аксессуары для Elecsys 2010 и cobas e 411

- Кат. № 11662988, Elecsys ProCell, 6 × 380 мл системного буфера
- Кат. № 11662970, Elecsys CleanCell, 6 × 380 мл моющего раствора для измерительной ячейки
- Кат. № 11930346, SysWash Elecsys, 1 × 500 мл добавка для дистиллированной воды
- Кат. № 11933159, Adapter for SysClean, адаптер для системного промывающего раствора
- Кат. № 11706802, Elecsys 2010 Assay Cup, 60 × 60 аналитических пробирок
- Кат. № 11706799, Elecsys 2010 Assay Tip, 30 × 120 наконечников для дозатора

Аксессуары для MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601

- Кат. № 04880340, Elecsys ProCell M, 2 бутылки × 2 л системного буфера
- Кат. № 04880293, Elecsys CleanCell M, 2 × 2 л моющего раствора для измерительной ячейки
- Кат. № 03023141, PC/CC-Cups, 12 пробирок для предварительного прогревания растворов ProCell M и CleanCell M
- Кат. № 03005712, ProbeWash M, 12 × 70 мл, чистящий раствор для финальной промывки и промывок в процессе замены реагентов
- Кат. № 12102137, Assay Cup/Assay Tips Combimagazine M, 48 комплектов × 84 реакционных пробирок или наконечников, мешки для отходов
- Кат. № 03023150, WasteLiner, Waste bags, мешки для отходов
- Кат. № 03027651, SysClean Adapter M, адаптер для системного промывающего раствора

Аксессуары для обоих анализаторов:

- Кат. № 11298500, Elecsys SysClean, 5 × 100 мл системный промывающий раствор

Измерение

Для оптимального качества анализа важно следовать инструкциям к анализаторам, и следить за тем, чтобы комплектация материалов для тест-системы и других расходуемых материалов была адекватной. Перемешивание микрочастиц перед использованием и считывание параметров данного теста из штрих-кода реактива происходит автоматически. Никакой ручной работы не требуется. Если в исключительных случаях штрих-код не считывается, введите последовательность из 15 цифр вручную.

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e: Довести температуру охлажденных реактивов примерно до 20°C и поместить их на диск для реактивов анализатора. Избегать образования пены. Система автоматически регулирует температуру реактивов и открывание/закрывание флаконов.

Поместить калибраторы (Cal1 и Cal2) в отсек для проб анализатора. Открывать только на время калибровки. Вся информация, необходимая для калибровки, содержится в штрих-коде на этикетке флаконов и считывается автоматически. После завершения калибровки хранить

калибраторы (Cal1 и Cal2) при 2–8°C или выбросить (MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601).

Калибраторы

«Elecsys свободный β -ХГЧ» стандартизован по отношению к Международному Стандарту для β -субъединицы ХГЧ Национального института биологических стандартов и контролей (NIBSC), код 75/551.

Каждый набор реактивов «Elecsys свободный β -ХГЧ» имеет этикетки со штриховым кодом, содержащим полную специфическую информацию, необходимую для калибровки данной серии реактива. Референсная калибровочная кривая адаптируется к анализатору путем использования набора калибраторов: «Elecsys свободный β -ХГЧ Калибровочный набор».

Частота калибровки. Калибровка должна проводиться каждый раз для новой партии реактивов с использованием свежих реактивов (т.е. бывшие в анализаторе не более 24 часов).

Рекомендуется обновлять калибровку следующим образом:

- через один месяц (когда используется одна и та же партия реактивов)
- через 7 дней (когда используется один набор реактивов в анализаторе)

Для всех типов анализаторов:

- по мере необходимости, например, если результаты контроля качества выходят за пределы надлежащего диапазона.

Контроль качества

«Elecsys PreciControl Maternal Care 1, 2 и 3» – контрольная сыворотка для материнского скрининга 1, 2 и 3. Можно использовать и другие подходящие контроли.

Контроли для различных диапазонов концентраций должны исследоваться как одиночные определения минимум один раз каждые 24 часа при использовании теста, один раз для каждой новой упаковки реактивов и после каждой калибровки. Контрольные интервалы должны соответствовать требованиям конкретных лабораторий. Полученные значения должны находиться в пределах установленных диапазонов. Каждая лаборатория должна выработать правила, позволяющие принять корректирующие меры в случае, если значения выходят за пределы диапазона.

Расчет результатов

Анализаторы автоматически рассчитывают концентрацию аналита в каждом образце в МЕ/л, мМЕ/мл или нг/мл.

Ограничения - интерференция

На анализ не влияют желтуха (билирубин <428 мкмоль/л или <25 мг/дл), гемолиз (гемоглобин $<0,621$ ммоль/л или $<1,0$ г/дл), липемия (Интралипид <1500 мг/дл) и биотин <123 нмоль/л или <30 нг/мл.

Критерий: открытие в пределах $\pm 10\%$ начального значения.

У пациентов, получающих лечение высокими дозами биотина, (а именно, > 5 мг/день) следует брать пробы не раньше, чем через 8 часов после последнего введения биотина.

Не обнаружено влияние ревматоидного фактора (до 1000 МЕ/мл).

Отсутствует эффект высокой дозы при концентрации свободного β -ХГЧ до 800 МЕ/л.

Проведены тесты *in vitro* на 18 наиболее распространенных лекарственных препаратах. Влияния на результаты анализа при этом не обнаружено.

В редких случаях может происходить интерференция, обусловленная очень высокими титрами антител к стрептавидину или рутению. Тест-система содержит дополнительные компоненты, сводящие к минимуму такие эффекты.

Для диагностических целей результаты теста всегда следует рассматривать в совокупности с историей болезни пациента, результатами клинического обследования и другими данными.

Диапазон измерения

0,1–190 МЕ/л (диапазон определен по нижнему пределу обнаружения и максимальной точке референсной калибровочной кривой). Значения ниже аналитической чувствительности метода обозначаются как <0,1 МЕ/л. Значения выше верхнего предела измерения обозначаются как >190 МЕ/л (или более 1 900 МЕ/л для образцов, разведенных в 10 раз).

Разведение

Образцы с концентрацией свободного β -ХГЧ, превышающей диапазон измерения, можно развести Универсальным Раствором для разведения образцов. Рекомендуется разведение 1:10 (в автоматическом режиме на анализаторах MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e или вручную). Концентрация свободного β -ХГЧ в разведенном образце должна быть >19 МЕ/л. После ручного разведения необходимо умножить полученный результат на фактор разведения. При разведении на анализаторах MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и cobas e прибор произведет расчет концентрации в автоматическом режиме с учетом фактора разведения.

Ожидаемые значения

Ниже представлены данные, полученные при использовании тест-системы «Elecsys свободный β -ХГЧ».

1. Исследование для получения референсных диапазонов на панели образцов сыворотки крови 500 здоровых небеременных доноров (исследование Roche No. R04P026) < 0,013 МЕ/л (95-я перцентиль).

2. Исследование тест-систем «Elecsys свободный β -ХГЧ» и «Elecsys PAPP-A» для оценки риска трисомии 21 в первом триместре беременности (исследование Roche No. B05P020 статистика Июль 2007).

Исследования проводились в четырех клинических центрах в Бельгии, Швейцарии и Германии с использованием тест-систем «Elecsys свободный β -ХГЧ» и «Elecsys PAPP-A». Показатели медиан (на 11-14 неделях гестации) были рассчитаны по анализу логарифмически-линейной регрессии (log-linear regression) 3270 показателей свободного β -ХГЧ в середине соответствующих недель беременности. Гестационный возраст рассчитывался по УЗИ показателям копчико-теменного размера плода (CRL) по Robinson [13].

Неделя гестации	11	12	13	14
Количество образцов сыворотки крови	206	623	1384	1057
Медиана (МЕ/л)	49.9	40.6	33.6	28.8

В каждой лаборатории необходимо исследовать допустимость перенесения ожидаемых результатов на собственных пациентов и в случае необходимости определить собственные референсные диапазоны.

Для пренатального тестирования рекомендуется периодически значения медиан рассчитывать заново.

Клинические аналитические характеристики:

Всего было проанализировано 1079 поступивших на рутинные клинические исследования образцов сыворотки крови от пациенток с известным исходом.. В этой группе 32 образца крови были получены от пациенток с подтвержденным синдромом Дауна у плода. Все образцы были параллельно исследованы методами определения свободного β -ХГЧ и PAPP-A, сертифицированными FMF (Fetal Medicine Foundation – Фонд Фетальной Медицины). Оценка риска производилась с помощью компьютерной программы SsdwLab, версия 5.0. Как уже сообщалось ранее, в данной программе используется алгоритм, описанный Palomaki и соавторами [14] с использованием математических расчетов по распределению Гаусса [15]. Оценка риска базируется на возрасте женщины, толщине воротникового пространства плода

и результатах биохимических параметров, скорректированных различными факторами, такими как вес, курение и этническая принадлежность беременной женщины.

Расчет индивидуального риска:

Расчет индивидуального риска беременности одним плодом с трисомией 21 был произведен без учета показателей толщины воротникового пространства плода для демонстрации эффективности биохимических методов. Учитывались вес женщины и курение как факторы коррекции. Совпадение результатов оценки риска сравнивали с конкурирующими методами при использовании дискриминационного уровня (cut-off), установленного лабораториями, участвующими в исследовании [16,17].

Каждый пользователь метода в праве выбрать показатель дискриминационного уровня для своей лаборатории.

Совпадение данных анализа

А. Совпадение данных анализа у беременных с нормально развивающимся плодом (n = 1047)

	Риск > cut-off (Roche*)	Риск < cut-off (Roche*)
Риск > cut-off (конкурирующий метод**)	55 (5,2%)	26 (2,5%)
Риск < cut-off (конкурирующий метод **)	6 (0,6%)	960 (91,7%)

В 1047 случаях с нормально развивающимся плодом методом Roche было корректно выявлено 986 образцов сыворотки крови (специфичность: 94,2%), при этом конкурирующим методом было корректно выявлено 966 образцов (специфичность: 92,3%).

Б. Уровень детекции беременности с подтвержденной трисомией 21 у плода (n = 32).

	Риск > cut-off (Roche*)	Риск < cut-off (Roche*)
Риск > cut-off (конкурирующий метод **)	21 (65,6%)	0
Риск < cut-off (конкурирующий метод **)	3 (9,4%)	8 (25%)

В 32 образцах сыворотки крови женщин беременных плодом с трисомией 21 показатель выявления этой патологии составил 75% (24/32), а конкурирующим методом – 65,6% (21/32).

* Комбинация результатов по тест-системам «Elecsys свободный β -ХГЧ» и «Elecsys PAPP-A»

** Комбинация результатов по конкурирующим тест-системам для определения свободного β -ХГЧ и PAPP-A.

Аналитические характеристики

Ниже приведены репрезентативные данные, полученные на анализаторах. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут несколько различаться.

Воспроизводимость (точность)

Воспроизводимость определяли с использованием реактивов Elecsys, пулов человеческой сыворотки и контролей в соответствии с модифицированным протоколом (EP5-A) Национального комитета клинических лабораторных стандартов (NCCLS): 6 раз в день в течение 10 дней (n=60). Воспроизводимость внутри анализа на MODULAR ANALYTICS E170 рассчитана при n=21.

Результаты анализа представлены ниже.

Анализаторы Elecsys 2010 и cobas e 411					
		Воспроизводимость внутри постановки		Общая воспроизводимость	
Образец	Среднее	SD	CV	SD	CV

	значение				
	МЕ/л	МЕ/л	%	МЕ/л	%
Сыворотка человека 1	7.56	0.195	2.6	0.198	2.6
Сыворотка человека 2	10.4	0.286	2.8	0.303	2.9
Сыворотка человека 3	101	1.80	1.8	2.13	2.1
КС ^b для материнского скрининга 1	13.9	0.133	1.0	0.172	1.2
КС для материнского скрининга 2	46.2	0.554	1.2	0.633	1.4
КС для материнского скрининга 3	91.5	0.975	1.1	1.12	1.2

^b КС = Контрольная сыворотка

Анализаторы MODULAR ANALYTICS E170 и cobas e 601

Образец	Воспроизводимость внутри постановки			Общая воспроизводимость		
	Среднее значение	SD	CV	Mean	SD	CV
	МЕ/л	МЕ/л	%	МЕ/л	МЕ/л	%
Сыворотка человека 1	4.4	0.028	0.6	7.1	0.191	2.7
Сыворотка человека 2	10.3	0.078	0.8	9.7	0.234	2.4
Сыворотка человека 3	102	1.17	1.2	98.2	2.23	2.3
КС ^b для материнского скрининга 1	13.5	0.096	0.7	13.2	0.209	1.6
КС для материнского скрининга 2	45.4	0.386	0.9	44.1	0.733	1.7
КС для материнского скрининга 3	90.3	0.568	0.6	87.9	1.58	1.8

Аналитическая чувствительность (нижний предел обнаружения)

< 0,1 МЕ/л.

Предел обнаружения представляет собой самую низкую концентрацию аналита, которую можно отличить от нуля. Его вычисляют как значение концентрации, лежащее на два стандартных отклонения выше от самого низкого стандарта (стандарт I эталонного калибратора + 2 SD, внутри-групповое сравнение, n = 21).

Метод сравнения

Сравнение метода производилось с использованием сыворотки человека по тест-системе «Elecsys свободный β-ХГЧ» (y) и коммерчески доступному методу определения свободного β-ХГЧ (x). Были получены следующие корреляции:

Количество проанализированных образцов: 634

Passing/Bablok18

$$y = 0.953x - 1.95$$

$$\bar{r}_b = 0.910$$

Линейная регрессия

$$y = 0.989x - 3.14$$

$$r = 0.991$$

Концентрация в образцах находилась приблизительно между 0,72 и 555 МЕ/л.

Аналитическая специфичность

Перекрестная реактивность с интактным ХГЧ составила < 0,05%. Не выявлена перекрестная реактивность с ХГЧ+β, ТТГ, ФСГ и ЛГ.

Функциональная чувствительность

< 0.5 МЕ/л.

Функциональная чувствительность – наименьшая концентрация аналита, которая может быть воспроизведена с коэффициентом вариации 20%.

Ссылки

- Berger P, Sturgeon C, Bidart JM, Paus E, Gerth R, Niang M, Bristow A, Birken S, Stenman UH. The ISOBM TD-7 Workshop on hCG and Related Molecules. *Tumor Biol* 2002;23:1-38.
- Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. *Clin Chem* 1997;43(12):2233-2243.
- Sturgeon CM, McAllister EJ. Analysis of hCG: clinical applications and assay requirements. *Ann Clin Biochem* 1998;35:460-491.
- Marcillac I, Troalen F, Bidart JM, Ghillani P, Ribrag V, Escudier B, et al. Free Human Chorionic Gonadotropin β Subunit in Gonadal and Nongonadal Neoplasms. *Cancer Res* 1992;52:3901-3907.
- Alfthan H, Stenman UH. Pathophysiological importance of various molecular forms of human choriogonadotropin. *Mol Cell Endocrinol* 1996;125:107-120.
- Kardana A, Cole LA. Polypeptide Nicks Cause Erroneous Results in Assays of Human Chorionic Gonadotropin Free β -Subunit. *Clin Chem* 1992;38(1):26-33.
- Canick JA, Lambert-Messerlian GM, Palomaki GE, Neveux LM, Malone FD, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, Saade GR, Berkowitz RL, Dar P, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, D'Alton ME. Comparison of Serum Markers in First-Trimester Down Syndrome Screening. *Obstet & Gynecol* 2006;108(5):1192-1199.
- Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003;10(2):56-104.
- Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, et al. First-Trimester or Second-Trimester Screening, or Both, for Down's Syndrome. *N Engl J Med* 2005;353(19):2001-2011.
- Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:221-226.
- Spencer K, Crossley JA, Aitken DA, Nix ABJ, Dunstan FDJ, Williams K. Temporal changes in maternal serum biochemical markers of trisomy 21 across the first and second trimester of pregnancy. *Ann Clin Biochem* 2002;39:567-576.
- Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Brit J Obstet Gynaecol* 1987;94:387-402.
- Robinson HP, Fleming JEE. A critical evaluation of sonar "crown-rump length" measurements. *Br J Obstet Gynaecol* 1975;82:702-710.
- Palomaki GE, Haddow JE. Maternal serum α -fetoprotein, age, and Down syndrome risk. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:460-463.
- Reynolds TM, Penney MD. The mathematical basis of multivariate risk screening: with special reference to screening for Down's syndrome associated pregnancy. *Ann Clin Biochem* 1989;27:452-458.

16. Bray I, Wright DE, Davies C, Hook EB. Joint estimation of Down syndrome risk and ascertainment rates: A meta-analysis of nine published data sets. *Prenat Diagn* 1998;18:9-20.
17. Benn PA. Advances in prenatal screening for Down syndrome: I. General principles and second trimester testing. *Clin Chim Acta* 2002;323:1-16.
18. Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

Для получения более подробной информации обращайтесь к соответствующим инструкциям к анализаторам и всем необходимым компонентам, используемым в работе.

COBAS, COBAS E, ELECSYS и MODULAR являются торговой маркой Roche. Другие бренды и наименования продукции являются торговыми марками других компаний. INTRALIPID является торговой маркой Fresenius Kabi AB.

©2007 Roche Diagnostics.