

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ООО «ХЕМА»

Ю. С. Лебедин

«___» _____ 2017 г.



ИНСТРУКЦИЯ

ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА СА 242 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «СА 242-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ.

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена СА 242 в сыворотке (плазме) крови «СА 242-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации антигена СА 242 в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. СА 242 - это один из основных маркеров, которые используются в онкологии. Диагностическая чувствительность теста СА 242 выше в 1,4 раза, чем СА 19.9 при дифференциальной диагностике рака поджелудочной железы (РПЖ) и хронического панкреатита. Прогностическое значение тестов при РПЖ в зависимости от стадии заболевания: чувствительность теста СА 242 при РПЖ — выше СА 19.9 на всех стадиях заболевания. При первой стадии заболевания специфичность СА 242 достигает 90%, а чувствительность тестов СА 242 и СА 19.9 составляет 41% и 29% соответственно. При диагностике рака толстого кишечника и прямой кишки СА 242 также является более чувствительным, чем другие онкомаркеры: при специфичности теста 90% чувствительность составляет 40%, в то время как чувствительность теста СА 19.9 и СА 50 составляет 23%. Серийные определения СА 242 позволяет выявить развитие рецидива колоректального рака за 5–7 месяцев до клинического выявления. Антиген СА 242 обнаруживается на клетках слизистой толстого кишечника и на апикальной поверхности клеток протоков поджелудочной железы человека.

1.3. Диагностическая значимость определения.

Определение СА 242 в сыворотке (плазме) крови в клинической практике используется для диагностики и мониторинга раковых опухолей желудочно-кишечного тракта.

1.4. Набор предназначен для диагностики *in vitro*.

1.5. Область применения — клиническая лабораторная диагностика.

1.6. Потенциальный потребитель — врачи клинико-диагностических лабораторий. Профессиональная квалификационная группа "Врачи и провизоры" всех уровней (Приказ №526 от 06.08.2007 г «Об утверждении профессиональных квалификационных групп должностей медицинских и фармацевтических работников»).

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки - всего 96 определений при использовании всего комплекта стрипов.

2.2. Принцип работы Набора.

Определение СА 242 основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к СА 242/СА 19.9 человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание СА 242, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышиных моноклональных антител к СА 242 человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с субстратным раствором тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации СА 242 в исследуемом образце. Концентрацию СА 242 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания СА 242 в калибровочных пробах.

2.3. Состав Набора:

- **Планшет** 96-луночный полистироловый стрипированный, готов к использованию - 1 шт.;
- **Калибровочные пробы***, содержащие известные количества СА 242 на основе трис-буфера – С1; С2; С3; С4; С5, Ед/мл, концентрации СА 242 в калибровочных пробах указаны в аналитическом паспорте и на этикетках флаконов, готовы к использованию - 5 флаконов (калибровочная проба С1 – 2,0 мл, остальные по 0,8 мл каждая);
- **Контрольная сыворотка*** на основе сыворотки крови человека с известным содержанием СА 242, готова к использованию - 1 флакон (0,8 мл);
- **Конъюгат**, готов к использованию - 1 флакон (14 мл);
- **Субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ)**, готов к использованию - 1 флакон (14 мл);
- **Концентрат отмывочного раствора** 26х-кратный - 1 флакон (22 мл);
- **Стоп-реагент**, готов к использованию - 1 флакон (14 мл);
- **Бумага** для заклеивания планшетов, готова к использованию - 2 шт.
- **Инструкция по применению Набора** – 1 шт.;
- **Аналитический паспорт (Паспорт контроля качества)** – 1 шт.
- * **Метрологическая прослеживаемость (калибровка):**

Международный эталонный СА 242 отсутствует. Поэтому калибровка осуществлялась с

использованием эталонного образца с известным содержанием СА 242, который является наиболее точным доступным стандартом.

Разведённые образцы данного эталона были исследованы с использованием регрессионного анализа и сравнены с теоретическими ожидаемыми результатами.

Контроль качества при изготовлении новых калибровочных проб и контрольной сыворотки гарантирует воспроизводимость и стабильность калибровки в течение долгого времени (обеспечивается внутренней процедурой).

Процесс проектирования, обеспечивающий стабильность калибровки: Согласно ГОСТ ISO 17511-2011.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Использование подобранной пары мышинных моноклональных антител к СА 242 человека позволяет выявлять только антиген к СА 242.

При тестировании пула сывороток с известной концентрацией СА 242 путём добавления пула с известным содержанием предполагаемых интерферирующих веществ ни одна из испытанных концентрации, не продемонстрировала перекрёстную реактивность.

3.2. Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения содержания СА 242 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «СА 242-ИФА» не превышает 8,0%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации СА 242 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей СА 242, имеет линейный характер в диапазоне концентраций С2-С5 Ед/мл и составляет 90-110%.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА 242 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы С3 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность. Минимально определяемая концентрация антигена СА 242, рассчитанная на основании среднего арифметического значения калибровочной пробы, содержащей С1 Ед/мл СА 242, плюс 2 SD (среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения V_0), не превышает 0,5 Ед/мл.

3.6. Интерсепт - значения концентраций СА 242 (Ед/мл), при которых соотношение V/V_{C5} соответствует 20%, 50% и 75%. Пределы указаны в аналитическом паспорте.

3.7. Интерференция.

Изучение образцов плазмы с различными антикоагулянтами показало, что такие антикоагулянты как ЭДТА, гепарин и цитрат натрия не приводят к матричному эффекту.

3.8. Клиническая проверка. Референтный интервал.

Исследуемая группа	Единицы	
	Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	20,0
Женщины	-	20,0

В соответствии с правилами GLP (Good Laboratory Practice, Хорошая Лабораторная практика), рекомендуется каждой лаборатории уточнить параметры референтного интервала, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций СА 242 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0,5 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (С5 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце (Х) концентрация СА 242 ниже 0,5 Ед/мл или выше 200 Ед/мл.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2б.

4.2. Сыворотки крови человека, используемые при приготовлении контрольной сыворотки, инактивированы и не содержат антитела к вирусу гепатита С, антитела к ВИЧ 1, 2 антиген вируса гепатита В (HBsAg), р24 ВИЧ-1.

4.3. Набор предназначен только для профессионального использования.

4.4. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5,0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными. Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

4.5. При работе с Набором необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток), так как образцы сыворотки или плазмы крови следует рассматривать как потенциально инфицированный биоматериал.

4.6. Все отмывочные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.

4.7. Лабораторную посуду многоразового использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество ИФА.

4.8. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70% раствором этилового спирта.

4.9. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

4.10. При работе следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905 (ISO 15190:2003) «Лаборатории медицинские Требования безопасности».

5. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- **фотометр вертикального сканирования**, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- **термостат**, поддерживающий температуру $+37\pm 3^{\circ}\text{C}$;
- **дозаторы** со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости в диапазоне 5,0-250 мкл;
- **цилиндр мерный** вместимостью 1000 мл;
- **вода дистиллированная**;
- **перчатки** резиновые или пластиковые;
- **бумага** фильтровальная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.

6.1. Процедура получения анализируемого материала. Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венопункции. Для анализа использовать неразведённую сыворотку (плазму) крови человека.

6.1.1. Подготовка анализируемых образцов сывороток крови пациентов. Кровь отобрать венопункцией, дать полностью свернуться, отделить сыворотку центрифугированием при комнатной температуре.

6.1.2. **Приготовление анализируемых образцов плазмы.** Сбор крови производить в центрифужные пробирки, содержащие антикоагулянты и немедленно после сбора центрифугировать. В качестве антикоагулянтов использовать ЭДТА, гепарин и цитрат натрия.

Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка.

6.2. Образцы сыворотки или плазмы крови хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 суток. Предпочтительно исследование образцов, хранящихся не более 24 часов при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$.

6.3. Допустимо замораживание образцов для более длительного хранения (до температуры -20°C и ниже) не более 2 недель. Допускается однократное размораживание/замораживание образцов.

6.4. Перед проведением исследования образца, подвергнутого замораживанию, его следует тщательно перемешать и осветлить с помощью центрифугирования.

6.5. Образцы сыворотки (плазмы), содержащие агрегаты и осадок, осветлять с помощью центрифугирования.

6.6. Образцы с гемолизом, гиперлипидемией или бактериальным проростом исследованию не подлежат, а также исследуемые образцы, содержащие азид натрия в качестве консерванта.

6.7. Перед проведением анализа исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре +18-25°C не менее 30 мин.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора следует выдержать при комнатной температуре +18-25°C не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

8.1. Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.

8.2. Если предполагаемая концентрация СА 242 в исследуемом образце превышает максимальную точку калибровки (С5) Ед/мл, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу С1. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения!

Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.

8.3. Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.

8.4. Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.

8.5. Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37°C.

8.6. По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора, встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

8.7. Внесите во все лунки по 100 мкл субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ). Внесение субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ) в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре +18-25°C в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.

8.8. Внести во все лунки планшета с той же скоростью и в той же последовательности, как и субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. Внесение стоп-реагента в лунки планшета необходимо произвести в течение 2-3 мин.

8.9. Измерить величину оптической плотности (ОП) в лунках планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение времени не более 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ.

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (X) - концентрация СА 242 в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (Y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.

9.2. Определить по калибровочному графику содержание СА 242 в исследуемых образцах. Если используемый образец предразводили, умножить полученный результат на фактор разведения.

10. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

10.1. При использовании Набора реагентов «СА 242-ИФА» для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение СА 242 в контрольной сыворотке.

10.2. Набор реагентов «СА 242-ИФА» предназначен для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста. Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

Информация, об особенностях транспортирования должна учитываться всеми лицами, участвующими в хранении, перевозке и утилизации (уничтожении) этого изделия.

11.1. Транспортирование.

11.1.1. Транспортирование Набора реагентов «СА 242-ИФА» должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$.

11.1.2. Транспортирование изделий при температурах, требующих соблюдения "Холодовой цепи", обеспечивающей сохранность температурного режима, должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов.

11.1.3. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

11.1.4. Свойства компонентов Набора допускают его немедленное применение для анализа после транспортирования.

11.2. Хранение.

11.2.1. Набор реагентов «СА 242-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности (18 мес.)

11.2.2. Хранение изделий при температуре от $+2-8^{\circ}\text{C}$ должно осуществляться в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры. Хранение изделий ниже 0°C должно осуществляться в морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры. Хранение светочувствительных изделий должно осуществляться в темном месте.

11.2.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора;
- все остальные компоненты Набора после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре +18-25°C не более 15 суток или при температуре +2-8°C не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

- конъюгат, субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ) и стоп-реагент после вскрытия флакона допускается хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора;

- калибровочные пробы после вскрытия флаконов допускается хранить при температуре +2-8°C не более 2 мес., при необходимости более длительного хранения - при температуре - 20°C в течение всего срока годности Набора;

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора допускается хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора;

11.2.4. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

11.3. Эксплуатация.

11.3.1. При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- Не использовать Набор реагентов, если упаковка повреждена.
- Тщательно перемешивать реагенты при подготовке и проведении анализа.
- Использовать для приготовления реагентов химически чистую посуду, обработанную дистиллированной водой.
- Использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку.
- Исключить прямое воздействие солнечных лучей на планшет во время проведения исследования.
- Не допускать присутствие паров перекиси водорода и хлора в помещении при проведении иммуноферментного анализа.

- Не смешивать компоненты наборов разных серий, кроме унифицированных неспецифических реагентов (концентрат отмывочного раствора (26х), стоп-реагента, субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ)).

11.3.2. Все компоненты Набора реагентов «СА 242-ИФА» при соблюдении требований данной Инструкции стабильны в течение всего срока годности. Не используйте Набор с истекшим сроком годности. Срок годности набора указан на внешней стороне упаковки.

11.3.3. Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

11.4. Утилизация.

11.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

11.4.2. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение наборов реагентов требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

11.4.3. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

Предприятие-изготовитель гарантирует стабильность компонентов и Набора, а также соответствие Набора требованиям Технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «СА 242-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу: 105264, Москва, ул. 9-ая Парковая, д. 48, тел/факс (495) 510-57-07.

Заместитель генерального директора
по технологии ООО «ХЕМА»

«__» 11. 09. 2017 2017 г.



Кострикина Е.С.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«__» 18. 10. 2017 2017 г.



Варнавичус П.К.

Символ	Значение символа
	Производитель
	Дата производства
	Номер по каталогу
	Номер серии
	Использовать до (год-месяц)
	Ограничения температуры
	Только для <i>ин vitro</i> диагностики
	Внимание!
	Обратитесь к инструкции по применению
	Беречь от влаги
	Не допускать воздействия солнечного света
	В состав, входят вещества «раздражающие», не являются едкими.
	Планшет
	Калибровочные пробы
	Контрольная сыворотка
	Конъюгат
	Субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ)
	Концентрат отмывочного раствора
	Стоп-реагент

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ
Генеральный директор ООО «ХЕМА»
Ю.С. Лебедин



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ
« 18.10.2017 » 201 18 г.

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Н.К.

