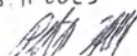


Instruction for use  
on a medical device  
«Kit for semi-quantitative determination of biotinidase activity  
«Neonatal Biotinidase» (Neonatal Biotinidase)»

**Approved:**

Full name Petri Kallio  
Position: Managing Director  
Company: Wallac Oy  
Date: 23.11.2023  
Signature:   
Seal:



I confirm that in accordance with Finland's Trade Register, \_\_\_\_\_

Petri Kallio

~~has the right alone~~ ~~have the right together~~ to represent the company

Wallac Oy

and that ~~he/she~~ ~~has~~ / ~~they have~~ signed this document personally.

Turku, Finland 27th November 2023

Ex officio:

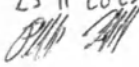
Fee 20 €

KAISA MYRSKY  
Henkikirjoittaja, julkinen notari  
Häradskrivare, notarius publicus  
District Registrar, Notary Public



**Инструкция по применению  
на медицинское изделие  
«Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы  
«Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)»**

**Утверждено:**

|            |                                                                                     |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Полное имя | Petri Kallio (Петри Каллио)                                                         |
| Должность: | Managing Director (Управляющий директор)                                            |
| Компания:  | Wallac Oy (Валлак Ою)                                                               |
| Дата:      | 23.11.2023                                                                          |
| Подпись:   |  |
| Печать:    |                                                                                     |



I confirm that in accordance with Finland's Trade Register, \_\_\_\_\_

Petri Kallio

~~has the right alone~~ has the right together to represent the company

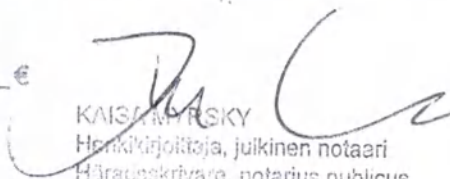
Wallac Oy

and that ~~he/she~~ has / ~~they have~~ signed this document personally.

Turku, Finland 27th November 2023

Ex officio:

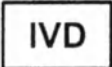
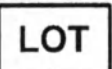
Fee 20 €

  
KAISA MYRSKY

Henkilökirjoittaja, julkinen notaari  
Häradsskrivare, notarius publicus  
District Registrar, Notary Public



## ОБОЗНАЧЕНИЯ

| Символ                                                                              | Обозначение                                                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
|    | Символ соответствия требованиям директив Европейского союза |
|    | Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>         |
|    | Код партии                                                  |
|    | Номер упаковки                                              |
|    | Номер по каталогу                                           |
|    | Использовать до                                             |
|    | Предел температуры                                          |
|    | Содержимого достаточно для проведения n тестов              |
|   | Обратитесь к инструкции по применению                       |
|  | Изготовитель                                                |
|  | Указанное направление должно совпадать с направлением вверх |
|  | Пригодно для последующей переработки                        |
|  | Восклицательный знак GHS07                                  |

## НАИМЕНОВАНИЕ

«Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальна Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» (далее по тексту – набор «Неонатальна Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)), набор, медицинское изделие, изделие)

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase) предназначен для полуколичественного определения активности биотинидазы в пробах крови, высушенных на фильтровальной бумаге, при скрининге новорожденных для выявления дефицита биотинидазы методом иммунофлуоресцентного анализа.

Только для профессионального применения.

Для диагностики in vitro.

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Скрининг новорожденных для выявления дефицита биотинидазы.

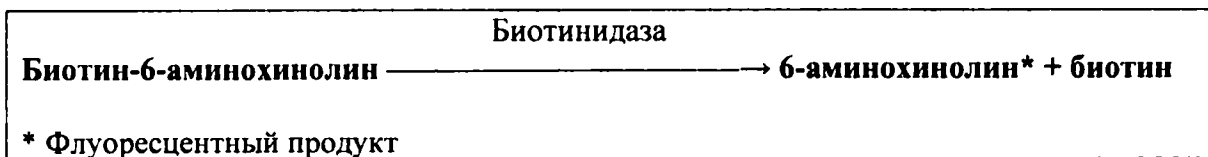
## ОБЩЕЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К АНАЛИТИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ

У новорожденных с дефицитом биотинидазы проявляется врожденное нарушение обмена веществ, характеризующееся неспособностью усваивать витамин, связываемый пищевым белком, или перерабатывать эндогенный биотин, образующийся при метаболизме карбоксилазы (1). Дефицит биотина развивается постепенно, приводя к дефициту биотин-зависимых вариантов карбоксилазы: пропионил-СоА-карбоксилазы, 3-метил-кродонил-СоА-карбоксилазы и пируваткарбоксилазы. Это нарушение является аутомомно-рецессивным, и у пациентов с недостатком активности биотинидазы проявляются различные симптомы, которые часто отсутствуют при рождении, что усложняет диагностику болезни в рамках клинического наблюдения (2). Симптомы в время наступления заболевания могут существенно варьироваться. В возрасте от 2 до 12 месяцев у детей с заболеванием обычно развиваются гипотония, атаксия, судорожные припадки, нарушение дыхания и задержка в развитии. В ряде случаев могут проявляться кожные заболевания (кожная сыпь, алопеция). Лечение биотином является эффективным, однако при задержке начала терапии неврологические повреждения могут быть частично необратимыми (1).

Была зафиксирована следующая частота возникновения недостаточности биотинидазы: глубокая недостаточность биотинидазы – 1:137,401, частичная недостаточность 1:109,921, и глубокая и частичная недостаточность вместе – 1:61,067 (3).

## ПРИНЦИПЫ АНАЛИТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Набор «Неонатальная Биотинидаза» представляет собой полуколичественный иммунофлуоресцентный анализ, адаптированный группой Питкянена и Тууминена (4). Ниже представлена схема ферментативной реакции биотинидазы.



Фермент биотинидазы использует биотин-6-аминохинолин (BAQ) в качестве субстрата. Биотинидаза обнаруживается в образце крови сама по себе и в ходе ферментативной реакции BAQ разделяется на флуоресцентный продукт 6-аминохинолин (6-AQ). При добавлении восстановленного реагента субстрата биотина в лунки с выбитыми панчечными дисками с сухими пятнами крови восстановленный реагент субстрата биотина произво-

выделение и восстановление белков и ферментов в сухом пятне крови. Это обеспечивает протекание представленной выше реакции. Активность биотинидазы выражается в ферментных единицах (U):  $1\text{ U} = 1\text{ нмоль конечного продукта, образующегося за одну минуту в одном децилитре крови (1 нмоль/мин/дл)}$ .

Добавление в лунки этанола в конце анализа приводит к остановке реакции и осаждению белков на дне лунки и на использованном диске с сухим пятном крови. Флуоресцентный продукт (6-AQ) образуется в ходе реакции в результате активности биотинидазы; его замер производится с помощью планшетного флуориметра. Активность биотинидазы устанавливается относительно калибровочной кривой. Верификация теста производится с помощью контрольных проб биотинидазы (Biotinidase Controls), входящих в комплект набора.

Замер интенсивности флуоресценции выполняется с применением медианной длины волны возбуждения – 355 нм и медианной длины волны излучения – 460 нм.

### **СОСТАВ НАБОРА**

«Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» в составе:

1. Калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators) – 1 лист фильтровальной бумаги (Whatman, № 903), содержащий 5 наборов сухих пятен крови;
2. Контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) - 1 лист фильтровальной бумаги (Whatman, № 903), содержащий 5 наборов сухих пятен крови;
3. Буфер для восстановления биотинидазы (Biotinidase Reconstitution Buffer) - 1 флакон, 50 мл;
4. Субстрат Реагент биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent) – 10 пробирок, лиофилизированный;
5. Черный микропланшет (без покрытия, на 96 лунок) – 10 шт.;
6. Наклейки со штрихкодами для планшетов (Barcode labels for the plates) - 30 шт.;
7. Клеящиеся пленки для микропланшетов (Adhesive microplate covers) – 10 листов;
8. Сертификат контроля качества партии (Lot-specific quality control certificate) – 1 шт.;
9. Инструкция по применению - 1 шт.

### **КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА**

Реагенты, входящие в каждый набор «Неонатальная Биотинидаза», рассчитаны на проведение 960 аналитических тестов.

Срок годности невскрытого набора указан на внешней маркировке (12 месяцев). Набор должен храниться при температуре  $+2\text{ — }+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Обратите внимание, что калибратор биотинидазы (Biotinidase Calibrators) и контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) до вскрытия должны храниться при температуре  $-30^{\circ}\text{ — }-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## РЕАГЕНТЫ

| Компонент                                                                 | Количество                                                                            | Условия и срок хранения                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators)<br>(1 U = нмоль/мин/дл) | 1 лист фильтровальной бумаги (Whatman, № 903), содержащий 5 наборов сухих пятен крови | Хранить в замороженном виде с защитой от влажности и прямого воздействия света в исходной упаковке с влагопоглотителем. Вещество стабильно при температуре -30° — -16 °С до истечения срока годности, указанного на этикетке. После вскрытия хранить при температуре +2 — +8 °С в течение 4 недель. Убедитесь, что в процессе хранения пластиковый пакет остается герметичным. |
| A 10 U                                                                    |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| B 30 U                                                                    |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| C 130 U                                                                   |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| D 180 U                                                                   |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| E 250 U                                                                   |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| F 350 U                                                                   |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

Точные значения активности биотинидазы указываются в сертификате контроля качества партии (Lot-specific quality control certificate), который входит в комплект каждого набора.

|                                                                              |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls)<br>(1 U = нмоль/мин/дл) | 1 лист фильтровальной бумаги (Whatman, № 903), содержащий 5 наборов сухих пятен крови | Хранить в замороженном виде с защитой от влажности и прямого воздействия света в исходной упаковке с влагопоглотителем. Вещество стабильно при температуре -30° — -16 °С до истечения срока годности, указанного на этикетке. После вскрытия хранить при температуре +2 — +8 °С в течение 4 недель. Убедитесь, что в процессе хранения пластиковый пакет остается герметичным. |
| Норма<br>275 U                                                               |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Патология<br>50 U                                                            |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

Целевые значения для контрольных проб биотинидазы (Biotinidase Controls) указываются в сертификате контроля качества партии (Lot-specific quality control certificate), который входит в комплект каждого набора.

Калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators) изготавливаются из цельной свиной крови, а контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) – из цельной человеческой крови; в качестве консерванта применяется Proclin 300<sup>1</sup>.

Активность биотинидазы задается в единицах с применением синтетического реагента – 6-аминохинолина (конечный продукт реакции) – в качестве гравиметрического стандарта. Чистота 6-аминохинолина как реагента проверяется с помощью количественного протонного магнитного резонанса (<sup>1</sup>H-NMR).

<sup>1</sup> Proclin – зарегистрированный торговый знак компании «Ром и Хаас» (Rohm and Haas, Co.).

|                                                                                                                                                                                                    |                                |                                                                                                                                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буфер для восстановления биотинидазы (Biotinidase Reconstitution Buffer)                                                                                                                           | 1 флакон, 50 мл                | Хранить при температуре при температуре +2 — +8 °С до истечения срока годности, указанного на этикетке. После вскрытия хранить при температуре +2 — +8 °С в течение 4 недель. |
| Готовый к использованию буфер для восстановления биотинидазы (Biotinidase Reconstitution Buffer) представляет собой калий-фосфатный буфер с ЭДТА, Proclin 300 и сахарозой в качестве консервантов. |                                |                                                                                                                                                                               |
| Субстрат Реагент биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent)                                                                                                                                       | 10 пробирок, лиофилизированный | Хранить при температуре при температуре +2 — +8 °С до истечения срока годности, указанного на этикетке.                                                                       |
| Реагент содержит сахарозу, фосфатный буфер, биотин-6-аминохинолин и дитиотрейтол.                                                                                                                  |                                |                                                                                                                                                                               |
| Черный микропланшет (без покрытия, на 96 лунок)                                                                                                                                                    | 10 планшетов                   | +2° — +25 °С                                                                                                                                                                  |
| Наклейки со штрихкодами для планшетов (Barcode labels for the plates)                                                                                                                              | 30 шт.                         | <b>Примечание:</b> штрих-код содержит ID набора, номер партии и номер, состоящий из 5 цифр.                                                                                   |
| Клеящиеся пленки для микропланшетов (Adhesive microplate covers)                                                                                                                                   | 10 листов                      | +2° — +25 °С                                                                                                                                                                  |
| Сертификат контроля качества партии (Lot-specific quality control certificate)                                                                                                                     | 1 шт.                          |                                                                                                                                                                               |
| Инструкция по применению                                                                                                                                                                           | 1 шт.                          |                                                                                                                                                                               |

## МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ АНАЛИЗА, НО НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ НАБОРА

Для проведения анализа с применением набора «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase) необходимы следующие компоненты, которые могут быть приобретены у компаний Wallac Oy (Валлак Ою) или «ПеркинЭлмер, Инк.», а также у их официальных дистрибьюторов.

1. Флуориметр, обеспечивающий возможность замера интенсивности флуоресценции от верхнего края лунки, при медианной длине волны возбуждения – 355 нм и медианной длины волны излучения – 460 нм [например, Прибор-счетчик лабораторный Wallac 1420 Multilabel Counter (Victor-2), производства "Валлак Ой", Финляндия, РУ № ФСЗ 2010/06207 от 05.02.2010], соединенный с принтером и компьютером.

2. Панчер для выбивания из фильтровальной бумаги дисков диаметром 3.2 мм (1/8 дюйма) [например, Прибор для выбивания бумажных дисков с образцами крови (Wallac DBS Puncher) с головками диаметром 3,2 мм, 4,7 мм, 6 мм (кат. № 1296-071), производства "Валлак Ой", Финляндия, РУ № ФСЗ 2010/06208 от 05.02.2010].

3. Автоматический встряхиватель мощностью 600-950 об/мин [например, Встряхиватель-инкубатор для микропланшет "ДЕЛФИЯ" (DELFLA Plate Shake) производства "Валлак Ою", Финляндия, Wallace Oy, РУ № ФСЗ 2010 07203 от 15.06.2010 (артикул 1296-003/004)].

4. Инкубатор, способный поддерживать температуру +50 °C ( $\pm 2$  °C) (например, Инкубатор - шейкер "ТриНест" для лабораторной диагностики in vitro (TriNEST Incubator Shaker) (кат. № 1296-0050), производства "Валлак Ою", Финляндия, Wallace Oy, РУ №ФСЗ 2010/07445 от 20.07.2010.

Кроме того, требуются следующие материалы:

- емкости для разведения с плотно притертыми крышками;
- пипетки или градуированные цилиндры для измерения объемов реагентов в миллилитрах;
- пипетки для дозирования объемов в микролитрах или система автоматического пипетирования;
- наконечники пипеток;
- емкости для реагентов;
- абсолютный этанол;
- карты образцов, изготовленные на фильтровальной бумаге, одобренной Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами (FDA).

## ВЗЯТИЕ И ОБРАБОТКА ПРОБ

Пробы крови берутся посредством пункции пяточной области на фильтровальную бумагу. Программы неонатального скрининга разнятся по типу используемых образцов. В США рекомендовано применение пятен крови диаметром порядка 12,7 мм (1/2 дюйма); кровь берется путем пункции пяточной области на фильтровальную бумагу. Взятие проб крови у новорожденных посредством пункции пяточной области обычно производится на 2 – 6 день после рождения, однако в ряде скрининговых программ сроки получения и количество проб могут быть различными. Для определения точного срока взятия и количества проб следует обратиться к местным стандартам и нормативам. Изделие для взятия проб должно отвечать национальным стандартам. Для реализации метода сухих пятен крови необходимо обеспечить качественный забор, обработку и транспортировку образцов. Методика забора подробно описана в Регламенте LA4-A5 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, 5). Основные моменты представлены ниже:

- Очистить кожу тампоном, смоченном в спирте, и дать ей высохнуть.
- Проколоть пятку ребенка стерильным ланцетом или специальным прокалывающим инструментом на глубину 1.0–2.0 мм. Более глубокое прокалывание (свыше 2,0 мм) у младенца может повредить кость.
- Стереть первую каплю крови. Аккуратно приложить фильтровальную бумагу к большой капле крови и дать ей хорошо впитаться, чтобы заполнился круг, отпечатанный на фильтровальной бумаге. Осмотреть обе стороны фильтровальной бумаги и убедиться, что кровь хорошо впиталась. Чрезмерное сдавливание места прокола может вызвать гемолиз или примешивание к образцу тканевой жидкости. Не накладывайте лишние капли крови на готовый образец, это ведет к образованию сгустков.
- Сушить образец крови на воздухе в горизонтальном положении вдали от источников света в течение 3 часов при комнатной температуре (+19 — +25 °C). Не нагревать и не складывать образцы вместе в процессе сушки.

<sup>2</sup> DELFIA – зарегистрированная торговая марка компании «ПеркинЭлмер, Инк.».

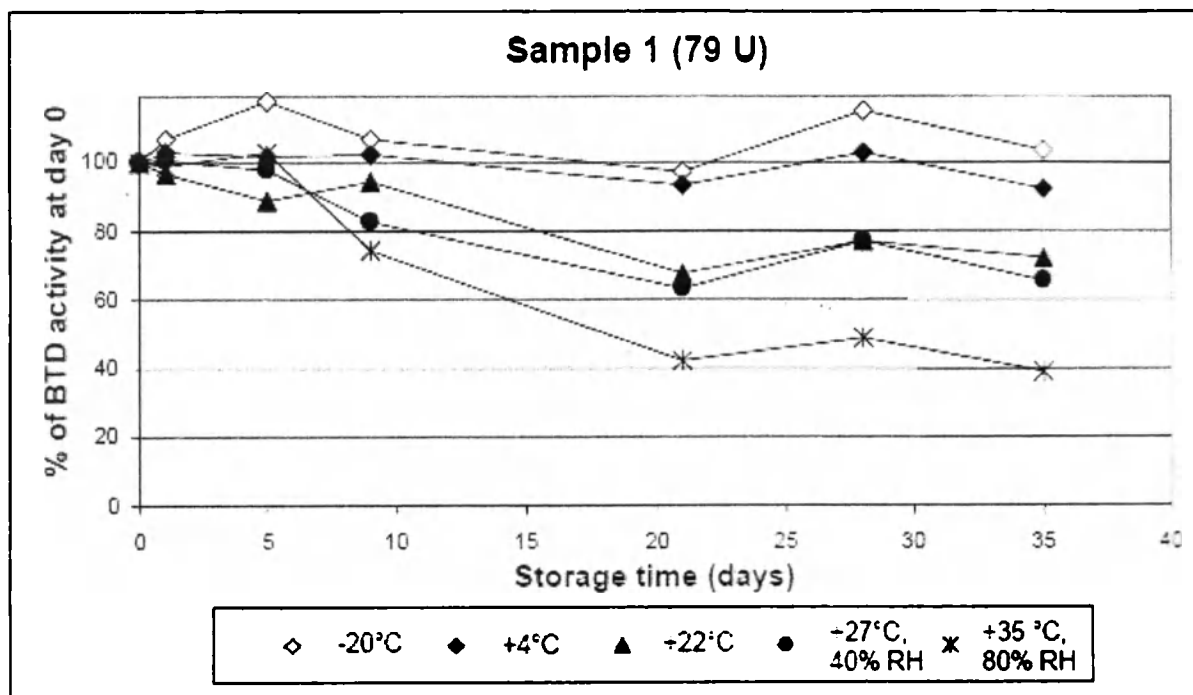
- Убедитесь, что необходимая информация полностью внесена в контрольную карту образца. Минимум необходимой информации напечатан на сборочном изделии и включает в себя:
  - фамилия (имя, если есть), пол, дата рождения (опционально: время рождения), вес при рождении и возраст ребенка (отметить, если менее 24 часов) и идентификационный номер пациента;
  - имя и фамилия матери;
  - дата взятия образца (опционально: время взятия);
  - название и адрес заказчика (опционально: место рождения (медицинское учреждение));
  - имя и телефонный номер врача (сотрудника здравоохранения);
  - название программы скрининга новорожденного и адрес;
  - каждый бланк должна иметь уникальный серийный номер и срок хранения.
- Перед помещением образцов в контейнер для транспортировки сухие пятна крови на картах должны быть отделены друг от друга для предотвращения их контакта между собой или повернуты на 180° относительно образцов, находящихся в картах, располагающихся непосредственно над и под данной картой. Образцы можно также защитить, поместив их в защитные конверты или проложить между ними пергамент.
- Следуйте инструкциям местных почтовых и транспортных служб для упаковки и перевозки образцов. Нельзя помещать образцы в герметичные контейнеры (пластиковые или фольговые пакеты). При необходимости следует добавить достаточное количество пакетиков с влагопоглотителем. Сырость и влага недопустимы для сухих образцов крови.
- Пробы необходимо доставить в лабораторию в течение 24 часов после взятия, если скрининговой лабораторией не указан иной срок.

Некоторые лаборатории могут запросить дополнительную информацию для указания на карте, в частности, был ли ребенок недоношен или переносен, и если да, то насколько, является ли он / она близнецом, а также сведения о питании, приеме антибиотиков и переливании крови. Для установления расхождений с минимальной обязательной информацией, указанной на изделии для забора крови, необходимо обратиться к местным нормативным документам и внутренней политике конкретного медицинского учреждения.

Особое внимание необходимо уделять условиям хранения и транспортировки образцов сухих пятен крови (DBS). Влияние продолжительности, температуры и влажности при хранении на активность биотинидазы исследовалось с применением пяти искусственно отобранных образцов DBS<sup>3</sup>. Результаты по двум образцам, отражающим клинически значимый диапазон, показаны ниже. Хранение образцов в условиях повышенной температуры и влажности повышает риск получения ложноположительных скрининговых результатов. Уровень активности представлен как процент от исходной аналитической активности.

<sup>3</sup> Исследование было проведено компанией Wallac Oy (Валлак Ою), Турку, Финляндия.

Образец 1 (79 U)

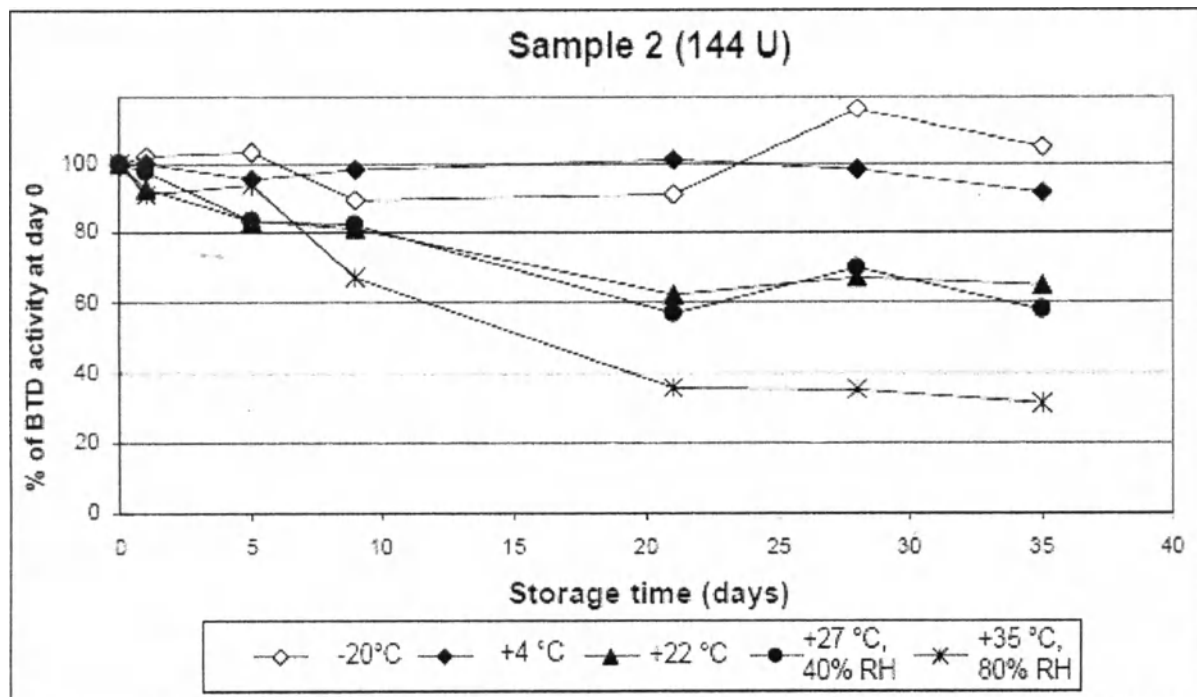


% of BTD activity at day 0 - % от активности биотинидазы в 0-й день

Storage time (days) - Период хранения (кол-во дней)

Sample 1 (79 U) - Образец 1 (79 U)

Образец 2 (144 U)



% of BTD activity at day 0 - % от активности биотинидазы в 0-й день

Storage time (days) - Период хранения (кол-во дней)

Sample 2 (144 U) - Образец 2 (144 U)

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

- Для использования в целях диагностики *in vitro*.
- Все оборудование, необходимое для использования описываемого набора, должно обслуживаться квалифицированными техническими специалистами.
- Набор включает реагенты, изготовленные из компонентов свиной и человеческой крови. Человеческая кровь исследовалась с применением методики, утвержденной Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами (FDA), или аналогичного метода; результат по поверхностному антигену гепатита В, антигену гепатита С, а также антителам к ВИЧ 1 и 2 – отрицательный. Тем не менее, были соблюдены все меры предосторожности, установленные для работы с производными крови. См. положения регламента «Обеспечение биологической безопасности в микробиологических и биомедицинских лабораториях», изданного Министерством здравоохранения и социального обеспечения США, или любых иных локальных или национальных нормативов.
- Образцы, полученные от пациентов, должны восприниматься как потенциальный источник инфекции.
- Все реагенты могут вызывать раздражение.
- При работе с растворами, содержащими этанол, необходимо следовать местным нормативным стандартам.
- Утилизация всех отходов должна осуществляться в соответствии с местными правилами и нормативами.
- Запрещено смешивать компоненты из разных партий.
- Не использовать набор при повреждении упаковки.
- Не использовать набор после истечения срока годности.
- Использовать набор только по назначению, описанному в инструкции по применению.
- Использовать защитную одежду. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Не есть, не пить и не курить в процессе использования. Избегать вдыхания паров, контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

## ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

Анализ каждого вида должен выполняться в двух повторениях с применением калибраторов биотинидазы (Biotinidase Calibrators) и контрольных проб биотинидазы (Biotinidase Controls). Калибровочная кривая должна быть построена для каждого планшета. Неизвестные образцы исследуются с помощью одного измерения. Все реагенты и образцы перед использованием необходимо довести до комнатной температуры (+19 — +25 °C).

### Изготовление реагентов

Субстрат Реагент биотинидазы  
(Biotinidase Substrate Reagent)

### Стабильность после восстановления

7 дней при температуре +2 — +8 °C.  
Когда реагент не используется, его необходимо хранить в плотно закрытом флаконе.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Для восстановления Субстрата Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent) используйте Буфер для восстановления биотинидазы (Biotinidase Reconstitution Buffer).

Выполнить восстановление Субстрата Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent), добавив 3 мл Буфера для восстановления биотинидазы в одну пробирку с лиофилизированным Субстратом Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent). Вновь плотно закрыть пробирку и несколько раз переверачивать ее в течение 30-60 минут

до растворения Субстрата Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent). Наличие нерастворенных кристаллов не оказывает влияния на анализ.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** В целях повышения растворимости раствор можно подвергнуть инкубации при температуре +37 — +45 °C (например, на водяной бане) в течение 5-15 минут. Вновь закрыть пробирку крышкой и несколько раз перевернуть ее до растворения Субстрата Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent). Для обработки одного планшета достаточно одной пробирки с восстановленным Субстратом Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent).

2. С помощью панчера выбить диски с калибраторами биотинидазы (Biotinidase Calibrators) и контрольными пробами биотинидазы (Biotinidase Controls) набора в двух повторениях в лунки черного микропланшета (диски фильтровальной бумаги диаметром около 3,2 мм (1/8 дюйма). В каждой лунке должен находиться только один диск. Для минимизации вариации диски следует выбивать из средней части пятна крови. Ниже в качестве примера представлена схема планшета.

Каждая лаборатория может по своему усмотрению определить оптимальный вариант расположения контрольных проб биотинидазы (Biotinidase Controls) и образцов.

| 1      | 2       | 3                   | 4                   | 5                   | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12     | Strip   |   |
|--------|---------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|---|
| Cal A  | Cal A   | Cal B               | Cal B               | Cal C               | Cal C | Cal D | Cal D | Cal E | Cal E | Cal F | Cal F  | A       |   |
| Ctrl I | Ctrl II | 1 <sup>st</sup> Unk | 2 <sup>nd</sup> Unk | 3 <sup>rd</sup> Unk | etc.  |       |       |       |       |       |        | B       |   |
|        |         |                     |                     |                     |       |       |       |       |       |       | Ctrl I | Ctrl II | H |

Cal – калибратор

Ctrl – контрольная проба

Strip – полоска

Unk – образец

etc. – и т.д.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** На каждом этапе используйте пипетки для дозирования.

3. В каждую лунку с диском фильтровальной бумаги добавить 25 мкл восстановленного Субстрата Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent). Визуально убедитесь, что жидкость присутствует во всех лунках, и слегка постучите по планшету, чтобы обеспечить увлажнение всех дисков.

4. Накрыть планшет клеящейся пленкой для микропланшетов (Adhesive microplate covers), обеспечив надлежащую герметичность для предотвращения испарения раствора из лунок в процессе инкубации.

5. Выполнять инкубацию при температуре +50 °C (±2 °) в течение 180 (± 10) минут без встряхивания.

6. Извлечь планшет из инкубатора и на 2-5 минут оставить его под пленкой при комнатной температуре (+19 — +25 °C).

7. Налить примерно 25 мл абсолютного этанола на каждый планшет в емкость для реагента. Объем этанола необходимо замерять, чтобы избежать излишков. Добавить 225 мкл этанола в каждую лунку. В течение 5 минут выполнять встряхивание планшета с помощью встряхивателя при низком режиме (600-950 об/мин) для перемешивания

содержимого лунок. Перед выполнением измерений оставить планшет при комнатной температуре (+19 — +25 °C) минимум на 10 (от 10 до 60) минут.

8. Выполнить замер флуоресценции, используя медианную длину волны возбуждения – 355 нм и медианную длину волны излучения – 460 нм. Получение данных по планшету должно быть произведено в течение одного часа с момента добавления абсолютного этанола. Более подробную информацию см. в Руководстве для пользователя к вашему прибору.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Если используется какой-либо иной флуориметр, кроме VICTOR, энергию возбуждения от флуориметра необходимо скорректировать для получения калибровочной кривой (кривая взвешенной линейной регрессии), представленной в разделе «ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ». Кроме того, для предотвращения насыщения детектора может потребоваться оптическое затухание с применением нейтрально-серого светофильтра на стороне эмиссии.

В случае использования флуориметра VICTOR с заданным протоколом анализа Биотинидазы необходимо убедиться в том, что у вас установлена версия 1.12 программного обеспечения, выпуск 2 или выше. При использовании протокола **MultiCalc®<sup>4</sup> (BTNDASE)** алгоритм подбора необходимо заменить на «РЕГРЕССИЮ ВЗВЕШЕННУЮ ЛИНЕЙНУЮ». Для получения более подробной информации обратитесь к местному представителю технической службы. При изменении количества реплик для неизвестных образцов следует соответственно изменить протокол.

|    |                          |              |                               |
|----|--------------------------|--------------|-------------------------------|
| 93 | BTNDASE                  |              |                               |
|    | ТИП АНАЛИЗА              | FLUORESCENCE | (иммунофлуоресцентный анализ) |
| 01 | ДВУХВОЛНОВЫЙ АНАЛИЗ      | =            | НЕТ                           |
| 03 | ПАРАМЕТРЫ ИЗМЕРЕНИЙ      | =            | Eu                            |
| 20 | ОСЬ X (КОНЦЕНТРАЦИЯ)     | =            | ЛИН                           |
| 21 | ОСЬ Y (РЕАКЦИЯ)          | =            | ИЗМЕРЕНИЕ                     |
| 22 | АЛГОРИТМ ПОДБОРА         | =            | ВЗВЕШЕННАЯ ЛИНЕЙНАЯ РЕГРЕССИЯ |
| 25 | СТАНДАРТНАЯ КРИВАЯ       | =            | НОВОЕ                         |
| 26 | СТАНДАРТЫ НА 2 ПЛАНШЕТАХ | =            | НОВОЕ                         |

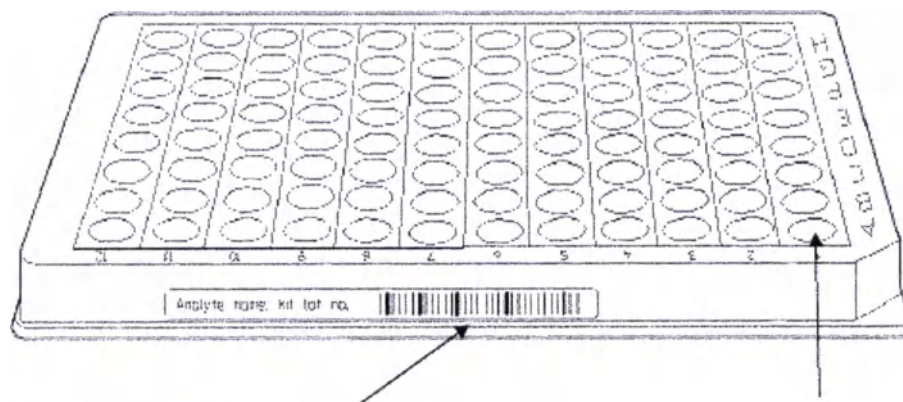
#### КОДИРОВАНИЕ

|               |     |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2 STD         | = A | (Убедитесь, что показатели активности калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators) соответствуют указанным в сертификате контроля качества партии (Lot-specific quality control certificate) товара. Если это не так, необходимо ввести новые параметры активности) |
| 2 STD         | = B |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 2 STD         | = C |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 2 STD         | = D |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 2 STD         | = E |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 2 STD         | = F |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 1 НЕИЗВЕСТНЫЙ |     |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| КОНЕЦ         |     |                                                                                                                                                                                                                                                                          |

<sup>4</sup> MultiCalc – зарегистрированная торговая марка компании «ПеркинЭлмер, Инк.».

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАКЛЕЕК СО ШТРИХКОДАМИ ДЛЯ ПЛАНШЕТОВ (BARCODE LABELS FOR THE PLATES)

При использовании наклеек со штрихкодами для планшетов (Barcode labels for the plates), входящих в комплект набора, их необходимо прикреплять к длинной пронумерованной стороне планшета таким образом, чтобы отмеченный угол планшета находился справа. Убедитесь, что наклейка располагается ровно вдоль нижнего края планшета, а также что сам штрих-код находится между лунками 5 и 8.



Прикрепить штрих-код  
посередине длинной стороны  
планшета

Поместить наклейку со штрих-кодом  
на планшет таким образом, чтобы  
лунка A1 находилась с этой стороны

## ПОЯСНЕНИЯ К ПРОЦЕДУРЕ АНАЛИЗА

1. Для успешного использования набора для исследования новорожденных необходимо внимательно ознакомиться с инструкцией по применению набора. Реагенты, входящие в комплект набора, предназначены для использования в комплексе. Совместное использование идентичных реагентов из наборов, имеющих разные номера партий, не допускается. После окончания срока годности, указанного на этикетке набора, использование реагентов набора запрещено.
2. Любое отклонение от процедуры анализа может негативно повлиять на результат.
3. Проникающие извне объекты, например, волокна или пыль, могут становиться источником флуоресценции.
4. Интенсивность флуоресценции может со временем колебаться; тем не менее, включение калибраторов биотинидазы (Biotinidase Calibrators) в каждый планшет позволяет обеспечить постоянство расчетных значений активности.
5. Перед использованием все реагенты и образцы необходимо довести до комнатной температуры (+19 — +25 °C).
6. На всех этапах дозирования необходимо использовать пипетирование с обратным ходом. Обычно такой вариант пипетирования является более точным при дозировании небольших объемов.
7. Убедитесь, что после использования панчера диски есть во всех лунках.

## РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Активность биотинидазы выражается в ферментных единицах (U): 1 U = 1 нмоль конечного продукта, образующегося за одну минуту в одном децилитре крови (1 нмоль/мин/дл).

Расчет результатов производится с помощью подбора взвешенной линейной регрессии, основанного на методе наименьших квадратов. Более подробную информацию см. в Приложении 1.

При использовании флуориметра VICTOR программное обеспечение MultiCalc включает программы для уплотнения данных, поэтому результаты могут быть получены в виде

распечаток калибровочных кривых, активности по неизвестным образцам и т.д. (Более подробную информацию см. в Руководстве по эксплуатации прибора VICTOR или в Инструкции по работе с MultiCalc).

## МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ КАЛИБРАТОРА КАТАЛОЖНЫЙ НОМЕР

3018-0010 Набор «Неонатальная Биотинидаза»

## ЭТАЛОННЫЙ МАТЕРИАЛ

6-аминохиолин, Sigma-Aldrich, № 275581

## Прослеживаемость калибраторов и контрольных проб

Международного эталонного препарата или метода определения активности биотинидазы не существует. «Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» был откалиброван гравиметрическим методом с использованием синтетически приготовленного 6-аминохиолина (6-AQ, Sigma-Aldrich, № 275581) в качестве основного калибратора. 6-аминохиолин является флуорогенным конечным продуктом реакции, катализируемой биотинидазой.

Препарат 6-аминохиолина известной чистоты растворяют и гравиметрически получают серию разведений 6-аминохиолина. Эталонная серия калибраторов откалибрована по серии разведений, изготовленных из препарата 6-аминохиолин. Затем калибраторы и контрольные пробы набора калибруются по сравнению с вышеупомянутыми эталонными калибраторами с использованием анализа на неонатальную биотинидазу.

Выражение активности фермента в единицах основано на определении активности фермента: единица фермента биотинидазы (U) соответствует активности фермента, который образует 1 нмоль флуоресцентного конечного продукта, 6-аминохиолина, за одну минуту на децилитр крови реакции, проводимой при 50°C.

При определении активности биотинидазы объем крови на диске с высушенным пятном крови диаметром 3.2 мм рассчитывается как 3.65 мкл (75 мкл крови распределяется в пятне со средним диаметром 14.5 мм). Ферментативную реакцию проводят при температуре 50°C со временем реакции 180 минут. Таким образом, активность фермента биотинидазы может быть рассчитана следующим образом: Активность биотинидазы в единицах измерения:  $U = \text{молярная масса 6-аминохиолина (нмоль)} \times \text{в лунке } x \text{ (1/мин)} \times \text{в (1/дл крови)}$ . Наконец, калибраторы и контрольные пробы набора затем калибруются по вышеупомянутым эталонным калибраторам для присвоения значений.

## МЕТОДИКА ИСПЫТАНИЙ

Калибровка указанных наборов «Неонатальная Биотинидаза» производилась с помощью гравиметрического метода.

Выполнялось разведение препарата 6-аминохиолина с известной степенью чистоты.

Серия разведений 6-аминохиолина были изготовлена гравиметрически.

Калибровка серии вторичного калибратора осуществлялась относительно серии разведений, полученной на основе препарата 6-аминохиолина.

Затем калибраторы и контрольные пробы наборов проходили калибровку относительно указанных выше вторичных калибраторов в целях присвоения значений.

| ПРИНЦИПЫ КАЛИБРОВКИ                                |  | ПОГРЕШНОСТЬ КАЛИБРОВКИ                                                                               |                             |
|----------------------------------------------------|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| ПЕРВИЧНЫЕ КАЛИБРАТОРЫ<br>(СОБСТВЕННЫЕ КАЛИБРАТОРЫ) |  | Погрешность калибровки при приближенных значениях калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators): |                             |
|                                                    |  | КОНЦЕНТРАЦИЯ (U)                                                                                     | ПОГРЕШНОСТЬ КАЛИБРОВКИ (U)* |
|                                                    |  | 10,0                                                                                                 | 4,5                         |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-bottom: 10px;">ВТОРИЧНЫЕ КАЛИБРАТОРЫ</div> <div style="text-align: center; margin-bottom: 10px;">↓</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">КАЛИБРАТОРЫ НАБОРА</div> | 30,0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 4,6 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 130                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 14  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 180                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 20  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 250                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 27  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 350                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 38  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <p>* Очевидная погрешность представляет собой измерение вариации внутри метода, соответствующей целевому применению набора. Погрешность не может использоваться для оценки разницы между методами. Для оценки погрешностей по одному калибратору используется допущение о нормальном распределении результатов измерений. Уровень доверительности для расширенной погрешности составляет 95% при коэффициенте охвата <math>k=2</math> (аналог величине <math>2SD</math> при стандартной погрешности).</p> |     |

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) должны всегда использоваться для обеспечения ежедневной корректности результатов. Анализ контрольных проб биотинидазы (Biotinidase Controls) должен проводиться тем же способом, что и испытания образцов. В комплект набора включены контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) двух разных уровней. Эти контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) должны присутствовать на каждой планшете. Каждой лаборатории рекомендуется определить собственные средние значения и приемлемый диапазон. Задаваемое среднее значение должно находиться в пределах  $\pm 2 SD$  от значений, указанных в сертификате контроля качества партии (Lot-specific quality control certificate). Лабораториям рекомендуется вводить собственные контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) различных уровней помимо контрольных проб биотинидазы (Biotinidase Controls), входящих в набор. Результаты по образцам могут быть сообщены, только если результаты по контрольным пробам биотинидазы (Biotinidase Controls) по конкретному анализу отвечают установленным в данной лаборатории критериям приемлемости (6). Необходимо убедиться в соблюдении действующих местных и национальных требований. Также рекомендуется участие в программах внешнего контроля качества.

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ АНАЛИЗА

Как и в случае с любыми другими скрининговыми испытаниями в рамках диагностики *in vitro*, данные, полученные с помощью набора «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)», должны использоваться в качестве вспомогательного метода при проведении обязательных медицинских процедур, при этом полученные результаты следует интерпретировать в совокупности с другими клиническими данными, которыми располагает врач – клиницист.

Набор «Неонатальная Биотинидаза» предназначен для проведения скринингового обследования новорожденных для выявления дефицита биотинидазы. Набор не может использоваться для проведения дифференциации между частичным и глубоким дефицитом биотинидазы.

Триглицериды (Интралипид<sup>5</sup> - 150 мг/дл при уровнях активности биотинидазы 55 U и 80 U, 300 мг/дл при уровне активности биотинидазы 20 U, а также 400 мг/дл – при уровне

<sup>5</sup> Интралипид (Intralipid) – зарегистрированная торговая марка «Фрезениус Каби АБ».

активности биотинидазы 160 U) вызывают снижение активности биотинидазы. Это может приводить к получению ложноположительного результата (т.е., «дефицит биотинидазы») для здоровых пациентов, поскольку значения по биотинидазе близки к пограничным. Условия, которые, как было установлено, приводят к получению аномальных результатов анализа:

- диск с образцом неравномерно пропитан кровью;
- диски с образцами выбиты слишком близко к краю пятна крови;
- образцы были взяты с нарушением процедуры и неправильно высушены;
- пятно крови без элюции по причине ухудшения качества образца вследствие воздействия на него высокой температуры и влажности;
- загрязнение фильтровальной бумаги с пятном крови фекальными массами;

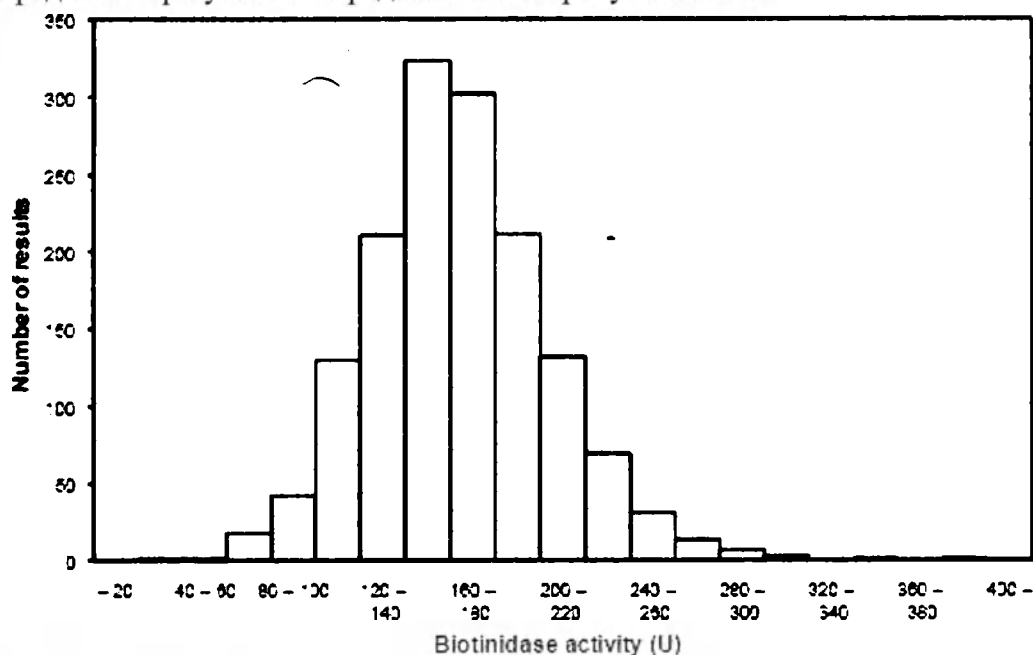
Также см. раздел «ПОЯСНЕНИЯ К ПРОЦЕДУРЕ АНАЛИЗА».

## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ<sup>6</sup> И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обращаем ваше внимание на то, что значения, представленные в данном разделе, даются только в качестве ориентира, и каждой лаборатории следует определить собственные пограничные значения. Не используйте пограничные значения, основанные на данных, полученных с применением какого-либо продукта анализа на биотинидазу, кроме набора 3018-0010 «Неонатальная Биотинидаза».

Распределение активности биотинидазы для популяции здоровых новорожденных (США) было получено с помощью набора 3018-0010 «Неонатальная Биотинидаза» путем определения активности биотинидазы для 1496 образцов скрининга новорожденных в лаборатории неонатального скрининга. Исследования проводились с применением флуориметра 1420 VICTOR™ 2D.

Распределение результатов представлено на рисунке ниже.



Number of results - Количество результатов

Biotinidase activity (U) - Активность биотинидазы (U)

Описательная статистика и пограничные значения процентилей показаны в таблице ниже:

|                | n    | Диапазон   | Среднее значение | Медиана | Нижние проценти |      |      |      |      |
|----------------|------|------------|------------------|---------|-----------------|------|------|------|------|
|                |      |            |                  |         | 0,1%            | 0,2% | 0,5% | 1%   | 2%   |
| Активность (U) | 1496 | 31,5 – 388 | 163,8            | 160,9   | 60,4*           | 62,4 | 70,6 | 77,8 | 85,9 |

\* Только 1 образец находился ниже процентиля 0,1%

<sup>6</sup> Исследование было проведено компанией Wallac Oy (Валлак Оу), Турку, Финляндия.

## **ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ**

Дефицит биотинидазы наследуется как аутосомно-рецессивный признак. Ребенок с глубоким дефицитом биотинидазы является гомозиготным, и в этом случае ферментативная активность обычно составляет менее 10% от среднего уровня для здоровой популяции, а иногда такая активность практически полностью отсутствует. Пациенты, для которых диагностируется частичный дефицит биотинидазы, являются гетерозиготными относительно мутации глубокого дефицита, и для них характерен промежуточный уровень активности биотинидазы, как правило, 10-30% от нормы. (2, 3, 7, 8).

Определение пограничных значений для предположительно положительных величин в случае дефицита биотинидазы может основываться на 30% от среднего нормального значения по популяции или на процентиле, который устанавливается в рамках скрининговой программы конкретной лаборатории. Чтобы указать на некоторую неточность анализа может быть введена зона неопределенности. Эта зона должна представлять пограничные значения с плюс-минус двукратной вариацией в пределах одного анализа. Образцы, попадающие в пределы зоны неопределенности при первичном скрининге, должны рассматриваться ни как положительные, ни как отрицательные относительно дефицита биотинидазы и в кратчайшие сроки подлежат повторному исследованию с применением той же процедуры испытаний. Если образцы окажутся внутри зоны неопределенности и после повторного анализа, из анализ должен быть продолжен с помощью другого метода.

Образцы с активностью биотинидазы ниже избранного пограничного значения должны рассматриваться как предположительно положительные. Эти образцы подлежат повторному анализу с помощью другого метода и утверждаются для последующего исследования для подтверждения результата, согласно местным нормативам.

Образцы, в которых при первичном скрининге была выявлена активность биотинидазы выше пограничного значения, должны рассматриваться как предположительно отрицательные относительно дефицита биотинидазы.

## **ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ЗНАЧЕНИЙ ВЫШЕ ИЛИ НИЖЕ ДИАПАЗОНА ИЗМЕРЕНИЙ**

Диапазон измерений данного анализа: от предела обнаружения (16 U) до уровня калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators) с максимальной концентрацией (номинальное значение – порядка 350 U).

Образцы, значения для которых окажутся ниже 16 U, подлежат повторному анализу в двух повторениях. Если полученные значения по-прежнему будут ниже предела обнаружения, рекомендуется указывать их как «<16 U». Такой результат должен рассматриваться как положительный.

Образцы, значения по которым будут выше диапазона измерений, представляются как активность калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators) набора с максимальной концентрацией. Такие образцы классифицируются как отрицательные. Для точного количественного определения значений, находящихся выше калибровочной кривой, необходимо использовать другой метод.

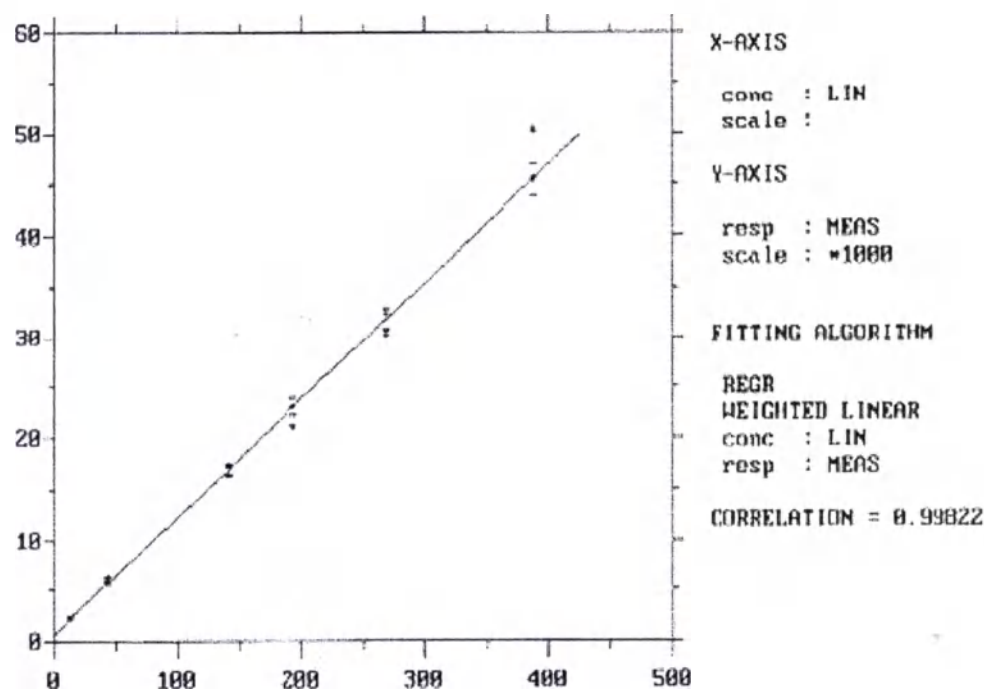
## **ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ**

Ниже представлены репрезентативные данные по эффективности. Результаты, полученные в разных лабораториях, могут отличаться.

Характеристики аналитической эффективности были установлены с применением флуориметра 1420 VICTOR™ 2D.

Диапазон измерений данного анализа: от предела обнаружения (16 U) до уровня калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators) с максимальной концентрацией (номинальное значение – порядка 350 U).

Стандартная калибровочная кривая ( $n = 2$ ) для набора «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase) представлена ниже:



|                       |   |                        |
|-----------------------|---|------------------------|
| X-AXIS                | - | ОСЬ X                  |
| conc: LIN             | - | концентрация: ЛИНЕЙНАЯ |
| scale:                | - | масштаб:               |
| Y-AXIS                | - | ОСЬ Y                  |
| resp: MEAS            | - | ответ: ИЗМЕРЕНИЯ       |
| scale: ~1000          | - | масштаб: ~1000         |
| FITTING ALGORITHM     | - | АЛГОРИТМ ПОДБОРА       |
| REGR                  | - | РЕГРЕССИЯ              |
| WEIGHTED LINEAR       | - | ВЗВЕШЕННАЯ ЛИНЕЙНАЯ    |
| conc: LIN             | - | концентрация: ЛИНЕЙНАЯ |
| resp: MEAS            | - | ответ: ИЗМЕРЕНИЯ       |
| CORRELATION = 0,99822 | - | КОРРЕЛЯЦИЯ             |

**Прецизионность<sup>7</sup>:** Прецизионность определялась на основании Регламента EP5-A2 Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS; 9).

Вариация аналитического исследования «Неонатальная Биотинидаза» определялась с помощью образцов сухих пятен крови с шестью разными уровнями активности; были задействованы три партии набора, три флуориметра и три оператора. Исследование выполнялось в течение 20 отдельных рабочих дней. Каждая аналитическая сессия включала 4 реплики образцов каждого уровня.

Для расчета оценок прецизионности применялся иерархический дисперсионный сбалансированный анализ случайных эффектов (ANOVA):

|                                    |     |     |     |     |     |     |
|------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Среднее значение по образцу (U)    | 23  | 54  | 75  | 95  | 144 | 287 |
| n                                  | 108 | 108 | 108 | 108 | 108 | 108 |
| Замеренный Мин (U)                 | 17  | 44  | 50  | 71  | 112 | 217 |
| Замеренный Макс. (U)               | 29  | 72  | 97  | 121 | 175 | 358 |
| Стандартное отклонение (SD) внутри | 1,4 | 4,4 | 5,9 | 7,9 | 10  | 21  |

<sup>7</sup> Исследование было проведено компанией Wallac Oy (Валлак Ою), Турку, Финляндия.

|                                            |     |     |     |     |     |     |
|--------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| аналитической сессии                       |     |     |     |     |     |     |
| КВ% внутри аналитической сессии            | 6,3 | 8,2 | 7,9 | 8,3 | 7,2 | 7,4 |
| Стандартное отклонение (SD) внутри партии* | 2   | 5,2 | 7,8 | 10  | 14  | 30  |
| КВ% внутри партии*                         | 8,8 | 9,7 | 10  | 11  | 9,8 | 11  |
| Общее Стандартное отклонение (SD)          | 2,3 | 5,5 | 8,4 | 11  | 16  | 35  |
| Общий КВ%                                  | 9,9 | 10  | 11  | 11  | 11  | 12  |

\* Вариация внутри партии включает вариации внутри аналитической сессии, между сессиями, между отдельными днями исследования, между использовавшимися флуориметрами, а также между операторами.

**Нижние пределы обнаружения<sup>8</sup>:** Предел пустой пробы и Предел обнаружения были определены в соответствии с Регламентом EP17-A Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS; 10).

Предел пустой пробы (LoB) для набора «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» составляет 12 U и определяется как 95-й процентиль при распределении пустых проб (n=180). Предел обнаружения (LoD) составляет 16 U и был получен на основании 384 определений для восьми образцов низкого уровня.

**Линейность<sup>9</sup>:** Линейность была определена на основании Регламента EP6-A Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS; 11). В отношении биотинидазы линейность данного метода была подтверждена для диапазона от 16 U до 390 U.

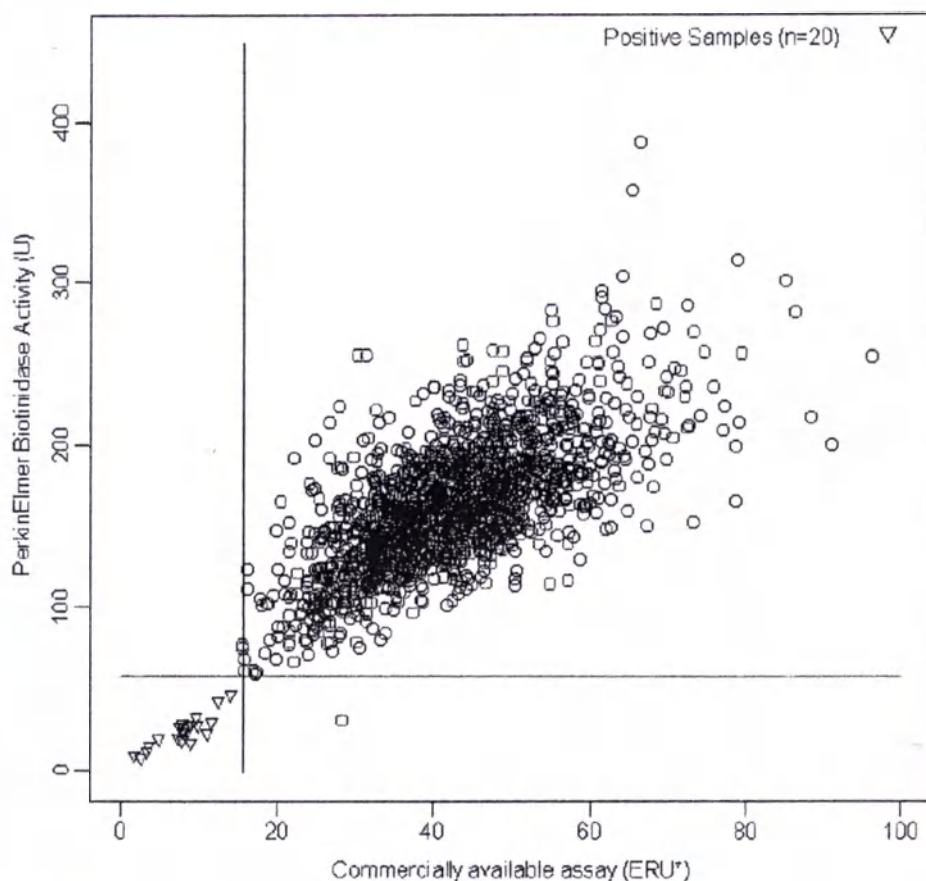
**Сопоставление методов<sup>10</sup>:** Сопоставление методов определялась в соответствии с Регламентом EP9-A2 Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS; 12).

Образцы, использованные для исследования, включали 1516 образцов сухих пятен крови новорожденных, представляющих популяцию для США, анализировавшихся в одном повторении с применением набора «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» и серийно выпускаемого в настоящее время теста. Образцы включали 1496 образцов рутинного скрининга и 20 ретроспективных образцов, для которых был поставлен положительный диагноз по дефициту биотинидазы. Пограничные значения определялись согласно маркировке для каждого конкретного метода (30% от среднего значения  $\pm$  2 SD – для набора «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» и 37% от среднего значения – для набора-аналога). Оба метода позволили правильно определить как положительные указанные выше 20 образцов с клинически подтвержденным диагнозом «дефицит биотинидазы». Наблюдавшиеся уровни активности представлены на рисунке ниже.

<sup>8</sup> Исследование было проведено компанией Wallac Oy (Валлак Ою), Турку, Финляндия.

<sup>9</sup> См. выше

<sup>10</sup> Исследование было проведено компанией Wallac Oy (Валлак Ою), Турку, Финляндия.



PerkinElmer Biotinidase Activity (U) - Активность биотинидазы (набор «ПеркинЭлмер»)  
 Commercially available assay (ERU\*) - Набор-аналог, присутствующий на рынке

Оценочные данные (n = 1516) по рутинным пробам и образцам, известным как положительные. Рутинные образцы отмечены значком (o), а известные положительные образцы – значком (Δ). Пограничные значения показаны сплошной линией.

\* Единица ферментного ответа (ERU)

Обзор результатов скрининга с учетом соответствующей маркировки по каждому методу представлен в таблицах ниже. К скрининг-положительным образцам (+) относятся образцы < пограничного значения, а скрининг-отрицательные (–) – ≥ пограничного значения.

| Результат скрининга<br>– Присутствующий<br>на рынке набор | Результат скрининга<br>– набора<br>«Неонатальная<br>Биотинидаза»<br>(Neonatal<br>Biotinidase)» | Всего<br>объектов | Выявленный<br>дефицит<br>биотинидазы | Отсутствие<br>выявленного<br>дефицита<br>биотинидазы |
|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------|
| +                                                         | +                                                                                              | 20                | 20                                   | 0                                                    |
| +                                                         | –                                                                                              | 2                 | 0                                    | 2                                                    |
| –                                                         | +                                                                                              | 1                 | 0                                    | 1                                                    |
| –                                                         | –                                                                                              | 1493              | 0                                    | 1493                                                 |
| Всего                                                     |                                                                                                | 1516              | 20                                   | 1496                                                 |

| Набор, присутствующий на рынке               |                              |                              | Всего |
|----------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|
| Набор производства компании<br>«ПеркинЭлмер» | Положительные<br>(<15,7 ERU) | Отрицательные<br>(≥15,7 ERU) |       |
| Положительные (< 58,5 U)                     | 20                           | 1                            | 21    |

|                                |    |      |      |
|--------------------------------|----|------|------|
| Отрицательные ( $\geq 58,5$ U) | 2  | 1493 | 1495 |
| Всего                          | 22 | 1494 | 1516 |

Процент совпадений положительных результатов составил 90,9% (20/22), а общая процентная сходимость – 99,8% ((20+1493)/1516).

Обращаем ваше внимание на то, что значения, представленные в настоящем разделе, показаны только в качестве ориентира. Каждой лаборатории рекомендуется определить собственные пограничные значения.

**Интерференция<sup>11</sup>:** Оценка набора «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase) на интерференцию осуществлялась в соответствии с Регламентом EP7-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI; 13).

Было установлено, что при указанных концентрациях следующие вещества не приводят к интерференции: аскорбиновая кислота (3 мг/дл), общий билирубин (20 мг/дл), ЭДТА (1 г/дл), гентамицин сульфат (0,5 мг/дл), гемоглобин (200 мг/дл), триглицериды (37 ммоль/л), гепарин (37,5 мг/дл).

## ГАРАНТИЯ

Производитель гарантирует качество медицинского изделия до истечения срока его годности (12 месяцев), при условии, что его упаковка не повреждена и соблюдены условия хранения, транспортирования и правильного применения, установленные нормативными документами и инструкцией по применению.

Представленные в настоящем документе данные по эффективности были получены при применении указанной аналитической процедуры. Любые изменения или пересмотр процедуры, произведенные в нарушение рекомендаций производителя, могут негативно влиять на результаты. В этом случае компания Wallac Oy (Валлак Ою) и ее аффилированные лица отказываются от любых явных, предполагаемых и предусмотренных законом гарантий, включая косвенные гарантии товарных качеств и годности к эксплуатации.

В указанном случае компания Wallac Oy (Валлак Ою), ее аффилированные лица и официальные дистрибьюторы не несут никакой ответственности за ущерб, косвенный или вторичный.

## ССЫЛКИ

1. Вулф Б., Грир Р.Е., МакВой Дж.Р.С. и Херд Г.С. (1985): Дефицит биотинидазы: вновь выявленный дефект рециркуляции витаминов. J Inherit Metab Dis 8, приложение 1, 53-58.
2. Вулф Б., Херд Г.С., Джефферсон Б.С. и др. (1985): Результаты клинических исследований четырех детей с дефицитом биотинидазы, выявленным в рамках общегосударственной программы неонатального скрининга. N Engl J Med 313, 16 – 19.
3. Вулф Б. и Херд Г.С. (1990): Скрининг для определения дефицита биотинидазы у новорожденных: мировой опыт. Pediatrics 85, 512 – 517.
4. Питкянен Л. и Тууминен Т. (1992): Применение количественного флуориметрического микрометода для скрининга новорожденных для выявления дефицита биотинидазы в Финляндии. Screening, 1, 185 – 194.
5. Институт клинических и лабораторных стандартов (2007): Взятие проб крови на фильтровальную бумагу для целей программ скрининга новорожденных; Утвержденный стандарт – Пятое издание; Регламент CLSI LA4-A5. CLSI, Уэйн, Пенсильвания 19087-1898, США.

<sup>11</sup> Исследование было проведено компанией Wallac Oy (Валлак Ою), Турку, Финляндия.

6. Вестгард Дж.О., Барри П.Л., Хант М.Р., Грот Т. (1981): Применение контрольной карты Шухарта со множеством правил для контроля качества в клинической химии. Clin. Chem. 27, 493-501.
7. Харт П.С., Эймс Дж. и Вулф Б. (1992): Биохимическое и иммунологическое описание сывороточной биотинидазы при частичном дефиците биотинидазы. Pediatric Research, 31 (3), 261-265.
8. Секор МакВой Дж.Р., Леви Г.К., Лоулер М., Шмидт М.А., Эберс Д.Д., Харт П.С., Петти Д.Д., Блитцер М.Г. и Вулф Б. (1990): Частичный дефицит биотинидазы: Клиническая и биохимическая характеристика, Journal of Pediatrics, 116 (1), 78 – 83.
9. Национальный комитет клинических лабораторных стандартов (2004): Оценка характеристик прецизионности количественных методов измерения; Утвержденное руководство – Второе издание. Регламент EP5-A2 NCCLS. NCCLS, 940, Вест Вэлли Роуд, стр. 1400, Уэйн, Пенсильвания 19087-1898, США.
10. Национальный комитет клинических лабораторных стандартов (2004): Протоколы для определения Пределов обнаружения и Пределов количественного определения; Утвержденное руководство. Регламент EP17-A NCCLS. NCCLS, 940, Вест Вэлли Роуд, стр. 1400, Уэйн, Пенсильвания 19087-1898, США.
11. Национальный комитет клинических лабораторных стандартов (2003): Оценка линейности процедур количественных измерений: Статистический подход; Утвержденное руководство. Регламент EP6-A NCCLS. NCCLS, 940, Вест Вэлли Роуд, стр. 1400, Уэйн, Пенсильвания 19087-1898, США.
12. Национальный комитет клинических лабораторных стандартов (2002): Сопоставление методов и оценка систематических ошибок с применением образцов, полученных от пациентов; Утвержденное руководство – Второе издание. Регламент EP0-A2 NCCLS. NCCLS, 940, Вест Вэлли Роуд, стр. 1400, Уэйн, Пенсильвания 19087-1898, США.

## ПАТЕНТЫ

Описанный выше набор защищен следующими патентами:

США: 5,538,857, 5,719,035

Дата последней версии: Июль 2011 г.

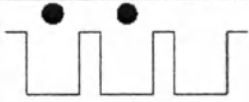
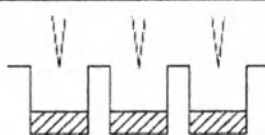
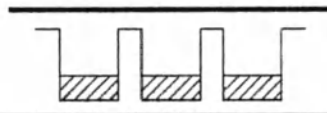
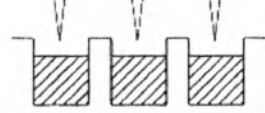
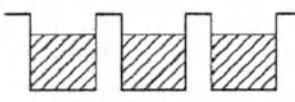
# Набор «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)», 3018-0010

## Обобщенное описание аналитического протокола

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

|                                                                               |                                                                                   |                                                                                                                                                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Восстановление Субстрата Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent) |  | Добавить 3 мл Буфера для восстановления биотинидазы в пробирку с Субстратом Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent). Помешивать 30-60 минут до растворения. |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### ПОРЯДОК АНАЛИЗА

|                                                                                                                                                        |                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| С помощью панчера выбить калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators), контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) и образцы для анализа |                                          | Использовать черный микропланшет (без покрытия, на 96 лунок), входящий в комплект набора                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Добавить Субстрат Реагента биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent)                                                                                 |                                         | 25 мкл                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Выполнить инкубацию                                                                                                                                    |                                       | 180 (± 10) мин. при + 50 °C (± 2 °C) под пленкой, без встряхивания                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Добавить абсолютный этанол                                                                                                                             |                                        | 225 мкл, 5 мин при медленном встряхивании                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Оставить планшет на некоторое время                                                                                                                    |                                       | 10 (10 – 60) мин при комнатной температуре (+19 – +25 °C)                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Выполнить измерения                                                                                                                                    | Измерения производить с применением медианной длины волны возбуждения – 355 нм и медианной длины волны излучения – 460 нм |  <b>BTNDASE</b><br>Для флуориметра VICTOR™ D использовать Версию 1.12 программного обеспечения, Издание 2 или выше<br><b>Примечание:</b><br>При использовании протокола MultiCalc® (BTNDASE) алгоритм подбора необходимо заменить на «РЕГРЕССИЮ ВЗВЕШЕННУЮ ЛИНЕЙНУЮ» |
| Выполнить расчет результатов                                                                                                                           |                                                                                                                           | См. раздел «РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ»                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

### **Официальный производитель**

Wallac Oy (Валлак Ою)  
Mustionkatu 6, FI-20750, Turku, Finland  
(Мустионкату 6, FI-20750, Турку, Финляндия)  
Тел: 358-(0)2-267 8111  
Факс: 358-(0)2-267 8357

### **Уполномоченный представитель в Российской Федерации**

Акционерное общество «ПРИБОРЫ»  
109028, г. Москва, Певческий переулок, дом 4, строение 1, помещение I, комната 10  
Телефон/факс: +7 (495) 937-45-94/ +7 (495) 937-45-92  
Адрес электронной почты: [info@pribori.com](mailto:info@pribori.com)

### **Тип анализируемого образца**

Образцы цельной капиллярной крови, взятые у новорожденных путем пункции пяточной области и высушенные на фильтрованной бумаге (DBS-dried blood spots).

### **Популяционные и демографические аспекты применения**

Данное медицинское изделие используется для диагностики *in vitro*, для диагностики у новорожденных на предмет выявления нарушений обмена веществ.  
Проводят анализ лица старше 18 лет, со средним профессиональным и высшим медицинским и биологическим образованием.

### **Потенциальный пользователь**

Медицинское изделие создано исключительно для профессионального применения, не предназначено для самодиагностики.  
Медицинское изделие могут использовать специалисты в области клинической лабораторной диагностики.

### **Конкретизация профессионального уровня потенциальных пользователей**

Медицинское изделие могут применять врачи клинической лабораторной диагностики, медицинские лабораторные техники (фельдшер, лаборант), биологи клинической лабораторной диагностики.

### **Область применения**

Клиническая лабораторная диагностика

### **Показания к применению**

Набор «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase) предназначен для полуколичественного определения активности биотинидазы в пробах крови, высушенных на фильтровальной бумаге, при скрининге новорожденных для выявления дефицита биотинидазы методом иммунофлуоресцентного анализа.  
Только для профессионального применения.  
Для диагностики *in vitro*.

### **Противопоказания**

Противопоказаний к применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* не выявлено.

## **Ожидаемые и прогнозируемые побочные действия, связанные с использованием медицинского изделия по назначению**

Побочных действий при применении медицинского изделия для диагностики *in vitro* не выявлено.

## **Информация о биологическом референтном интервале применения медицинского изделия**

Не применимо.

## **Остаточные риски, противопоказания, ожидаемые и предсказуемые побочные эффекты, связанные с применением медицинского изделия по назначению, определенному производителем**

Результаты процесса управления рисками показывают, что общий остаточный риск медицинского изделия является приемлемым, приняты соответствующие меры для получения производственной и постпроизводственной информации.

## **Срок хранения и срок годности**

Срок хранения «Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)»: 12 месяцев.

Срок годности «Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» составляет 12 месяцев.

Срок годности после вскрытия первичной упаковки «Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» составляет 4 недели.

## **Стабильность**

### **Стабильность компонентов в режиме реального времени и при транспортировке**

Текущий срок годности «Набора для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» составляет 12 месяцев.

Проведенные тесты на стабильность при использовании в режиме реального времени и при транспортировке (имитация условий перевозки) подтверждают установленный срок годности. Было показано, что приемлемые данные о стабильности в реальном времени для трех партий наборов составляют до 25 месяцев, что указывает на возможность продления срока годности.

### **Стабильность набора и его компонентов при использовании после вскрытия упаковки**

На основании проведенных исследований стабильности после вскрытия упаковки в процессе эксплуатации восстановленный субстрат реагент стабилен в течение одной недели при температуре от +2 до +8°C. Открытый буфер для восстановления биотинидазы (Biotinidase Reconstitution Buffer), калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators) и контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) могут храниться 4 недели при температуре от +2 до +8°C.

## **Габариты медицинского изделия и его упаковки**

Габариты и внешний вид медицинского изделия «Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)» и его упаковки

| № п/п | ТРЕБОВАНИЯ<br>(параметры, характеристики)          | ТРЕБУЕМОЕ ЗНАЧЕНИЕ<br>(в соответствии с технической документацией) |
|-------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1.    | Коробка «Набор для полуколичественного определения | Длина: 16,4 см ±5%<br>Ширина: 20,5 см ±5%                          |

звание  
го не

| №<br>п/п                | ТРЕБОВАНИЯ<br>(параметры, характеристики)                                                                                                    | ТРЕБУЕМОЕ ЗНАЧЕНИЕ<br>(в соответствии с технической документацией)                                                                                                                               |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         | активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)»                                                                    | Высота: 14,0 см $\pm 5\%$<br>Масса нетто: 120,0 г $\pm 5\%$<br>Масса брутто: 815 г $\pm 5\%$                                                                                                     |
| 2.                      | Калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators) – 1 лист фильтровальной бумаги (Whatman, № 903), содержащий 5 наборов сухих пятен крови    | Масса: 5,0 г $\pm 5\%$<br>Длина: 16 см $\pm 5\%$<br>Ширина: 15,7 см $\pm 5\%$<br>Толщина: 0,4 мм $\pm 5\%$                                                                                       |
| 3.                      | Контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) - 1 лист фильтровальной бумаги (Whatman, № 903), содержащий 5 наборов сухих пятен крови | Масса: 1,4 г $\pm 5\%$<br>Длина: 15,6 см $\pm 5\%$<br>Ширина: 4,4 см $\pm 5\%$<br>Толщина: 0,38 мм $\pm 5\%$                                                                                     |
| 4.                      | Буфер для восстановления биотинидазы (Biotinidase Reconstitution Buffer) - 1 флакон, 50 мл                                                   | Масса флакона с крышкой: 65 г $\pm 5\%$<br>Высота с крышкой: 83 см $\pm 5\%$<br>Высота без крышки: 81,5 см $\pm 5\%$<br>Диаметр крышки: 2,5 см $\pm 5\%$<br>Диаметр флакона: 4,0 см $\pm 5\%$    |
| 5.                      | Субстрат Реагент биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent) – 10 пробирок, лиофилизированный                                                | Масса пробирки с крышкой: 7,0 г $\pm 5\%$<br>Высота с крышкой: 4 см $\pm 5\%$<br>Высота без крышки: 3,9 см $\pm 5\%$<br>Диаметр крышки: 1,65 см $\pm 5\%$<br>Диаметр пробирки: 1,75 см $\pm 5\%$ |
| 6.                      | Черный микропланшет (без покрытия, на 96 лунок) – 10 шт.                                                                                     | Масса 10 планшетов: 460 г $\pm 5\%$<br>1 планшет:<br>Масса: 46 г $\pm 5\%$<br>Длина: 12,5 см $\pm 5\%$<br>Ширина: 8,5 см $\pm 5\%$<br>Толщина: 1,45 см $\pm 5\%$                                 |
| 7.                      | Наклейки со штрихкодами для планшетов (Barcode labels for the plates) - 30 шт.                                                               | 1 Этикетка со штрихкодом:<br>Длина: 27,0 см $\pm 5\%$<br>Ширина: 6,5 см $\pm 5\%$                                                                                                                |
| 8.                      | Клеящиеся пленки для микропланшетов (Adhesive microplate covers) – 10 листов                                                                 | 1 лист:<br>Масса: 1,75 г $\pm 5\%$<br>Длина: 12,0 см $\pm 5\%$<br>Ширина: 8,0 см $\pm 5\%$<br>Толщина: 0,150 мм $\pm 5\%$                                                                        |
| Внешний вид компонентов |                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                  |
| 1.                      | Коробка «Набор для полуколичественного определения активности биотинидазы «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase)»                 | Картонная коробка.                                                                                                                                                                               |
| 2.                      | Черный микропланшет (без покрытия, на 96 лунок) – 10 шт.                                                                                     | 96-луночный пластиковый черный планшет, без сколов и повреждений, упакованы 10 штук в пластиковую упаковку.                                                                                      |
| 3.                      | Наклейки со штрихкодами для планшетов (Barcode labels for the plates) -                                                                      | Штрих-коды, 30 шт.                                                                                                                                                                               |

| №<br>п/п | ТРЕБОВАНИЯ<br>(параметры, характеристики)                                       | ТРЕБУЕМОЕ ЗНАЧЕНИЕ<br>(в соответствии с технической<br>документацией)                               |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|          | 30 шт.                                                                          |                                                                                                     |
| 4.       | Клеящиеся пленки для микропланшетов<br>(Adhesive microplate covers) – 10 листов | Клейкая пленка, упакована в<br>количестве 10 листов в<br>пластиковый пакет и картонную<br>упаковку. |

#### Внешний вид компонентов

| Компонент                                                                         | Совокупное<br>состояние                 | Цвет                                                     | Прозрачность | Наличие или<br>отсутствие<br>осадка или<br>хлопьев |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------|----------------------------------------------------|
| Калибраторы<br>биотинидазы (Biotinidase<br>Calibrators)                           | Твердое<br>(фильтроваль-<br>ная бумага) | Красно-<br>коричневатые<br>пятна крови /<br>белая бумага | Непрозрачный | Нет осадка или<br>хлопьев                          |
| Контрольные пробы<br>биотинидазы (Biotinidase<br>Controls)                        | Твердое<br>(фильтроваль-<br>ная бумага) | Красно-<br>коричневатые<br>пятна крови /<br>белая бумага | Непрозрачный | Нет осадка или<br>хлопьев                          |
| Буфер для<br>восстановления<br>биотинидазы (Biotinidase<br>Reconstitution Buffer) | Жидкость                                | Бесцветный                                               | Прозрачный   | Нет осадка или<br>хлопьев                          |
| Субстрат Реагент<br>биотинидазы (Biotinidase<br>Substrate Reagent)                | Лиофилизиро-<br>ванный                  | Белый                                                    | Непрозрачный | Может<br>содержать<br>осадок или<br>хлопья.        |

#### Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства для медицинского применения, материалов животного и (или) человеческого происхождения

Данное медицинское изделие не содержит лекарственных препаратов для медицинского применения. Не содержит фармацевтических субстанций для медицинского применения.

##### *Вещества человеческого происхождения*

Контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) содержат цельную кровь человека. Человеческая кровь была проверена методами, одобренными FDA, или аналогичными на наличие поверхностного антигена гепатита В, антител к гепатиту С и ВИЧ I и II типов с отрицательным результатом анализа.

Хотя материал человеческого происхождения, из которого изготовлено это медицинское изделие, не содержит антитела к ВИЧ 1, 2 и вирусу гепатита С и HBsAg, не существует известного способа гарантировать, что продукты человеческого происхождения не передают гепатит или ВИЧ. Обращайтесь со всеми контролями как с потенциально инфицированными.

##### *Вещества животного происхождения*

Калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators) содержат цельную свиную кровь.

Цельная свиная кровь, применяемая при изготовлении калибраторов, получена с животных, прошедших ветеринарный контроль и находившихся под наблюдением, с учетом предполагаемого использования крови.

**Информация о порядке установки, монтажа, настройки, калибровки и иных действиях, необходимых для ввода медицинского изделия в эксплуатацию**  
Не применимо. Данное медицинское изделие не подлежит установке, монтажу и вводу в эксплуатацию.

**Информация о материалах для взятия и транспортировки образца или характеристики материалов, рекомендованных для этих целей**  
Материалы не поставляются.

**Требования к помещениям, в которых предполагается установка (монтаж) медицинского изделия**  
Данное медицинское изделие для использования в лабораториях.

**Обслуживание и ремонт**  
Не применимо.

**Информация о порядке обработки медицинского изделия для его повторного использования, включая очистку, дезинфекцию, упаковку и при необходимости метод повторной стерилизации (если медицинское изделие предназначено для многократного использования), а также критерии непригодности медицинского изделия для применения**  
Не применимо.

**Информация о стерильности изделия**  
Не применимо. Данное медицинское изделие не является стерильным, не подлежит стерилизации.

**Информация в отношении медицинского изделия, предназначенного для самотестирования потребителем**  
Не применимо. Данное медицинское изделие не предназначено для самотестирования.

**Информация о природе, типе, а также (при необходимости) об интенсивности и распределении излучения (электромагнитное, ионизирующее, иное) медицинского изделия и способах защиты потребителей и третьих лиц от непреднамеренного излучения в процессе эксплуатации медицинского изделия (если медицинское изделие создает опасный или потенциально опасный уровень излучения при использовании по назначению)**  
Не применимо.

**Информация об обстоятельствах, при которых потребитель должен проконсультироваться с медицинским работником**  
Не применимо.

**Сведения об ограничениях или несовместимости с медицинским изделием отдельных лекарственных средств или биологических материалов (если медицинское изделие предназначено для введения лекарственных средств или биологических материалов)**  
Не применимо. Данное медицинское изделие не предназначено для введения лекарственных средств или биологических материалов.

**Перечень и описание материалов медицинского изделия, вступающих в непосредственный контакт с телом пациента (телом человека)**

Не применимо. Медицинское изделие не контактирует с телом пациента (телом человека) ни напрямую, ни опосредованно.

**Данные о безопасности ЭМС**

Не применимо.

**Валидация и верификация программного обеспечения**

Не применимо. Не содержит ПО.

**Информация о ранее зарегистрированных версиях медицинского изделия**

Данное медицинское изделие не было ранее зарегистрировано на территории Российской Федерации.

**Описание или полный список различных конфигураций/исполнений медицинского изделия для диагностики *in vitro***

Набор «Неонатальная Биотинидаза» (Neonatal Biotinidase) выпускается в одном варианте исполнения – на 960 тестов.

**Условия хранения и эксплуатации**

- Рабочая температура: от +18°C до +25°C (комнатная температура).
- Относительная влажность (RH): от 20 до 80% без конденсации.
- Давление: атмосферное.
- Хранить в защищенном от света месте.

**Хранение:**

**Калибраторы биотинидазы (Biotinidase Calibrators)**

Хранить в замороженном виде с защитой от влажности и прямого воздействия света в исходной упаковке с влагопоглотителем. Вещество стабильно при температуре -30° — -16 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке. После вскрытия хранить при температуре +2 — +8 °C в течение 4 недель. Убедитесь, что в процессе хранения пластиковый пакет остается герметичным.

**Контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls)**

Хранить в замороженном виде с защитой от влажности и прямого воздействия света в исходной упаковке с влагопоглотителем. Вещество стабильно при температуре -30° — -16 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке. После вскрытия хранить при температуре +2 — +8 °C в течение 4 недель. Убедитесь, что в процессе хранения пластиковый пакет остается герметичным.

**Буфер для восстановления биотинидазы (Biotinidase Reconstitution Buffer)**

Хранить при температуре +2 — +8 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке. После вскрытия хранить при температуре +2 — +8 °C в течение 4 недель.

**Субстрат Реагент биотинидазы (Biotinidase Substrate Reagent)**

Хранить при температуре +2 — +8 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке.

**Черный микропланшет (без покрытия, на 96 лунок)**

Хранить при температуре +2° — +25 °C.

**Клеящиеся пленки для микропланшетов (Adhesive microplate covers)**

Хранить при температуре +2° — +25 °C.

**Хранение образцов**

При хранении образцов следуйте требованиям принятых федеральных, государственных или локальных нормативных документов. Рекомендуется хранить образцы в герметичном

пакете с влагопоглотителем не более 5 дней при температуре от +2 °С до +8 °С и относительной влажности не более 30%.

### **Условия транспортировки**

Транспортировка набора может осуществляться любым способом с соблюдением условий хранения\*.

Материалы и упаковка обеспечивают возможность использования набора после транспортировки и хранения в соответствии с рекомендациями, представленными в инструкции по применению.

\* Условия транспортировки: набор должен транспортироваться при температуре +2 — +8 °С. Обратите внимание, что калибратор биотинидазы (Biotinidase Calibrators) и контрольные пробы биотинидазы (Biotinidase Controls) должны транспортироваться при температуре -30° — -16 °С.

### **Утилизация**

Наборы с истекшим сроком годности, использованные изделия, образцы утилизируют в соответствии с принятыми государственными или локальными нормативными документами государства, в котором осуществляется их продажа.

Сотрудники лаборатории, в которой производятся исследования, несут ответственность за обращение и утилизацию образующихся отходов и сточных вод в соответствии с их типом и степенью опасности, согласно всем применимым нормам и правилам.

Уничтожение изделий осуществляется организациями, имеющими соответствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях в соответствии с требованиями, предусмотренными существующими законами государства, в котором осуществляется их продажа, и с соблюдением обязательных требований по охране окружающей среды.

### **Защита окружающей среды**

Во время эксплуатации и хранения медицинское изделие не оказывает отрицательного влияния на пациента, медицинских работников и на окружающую среду при соблюдении правил, описанных в инструкции по применению.

### **Рекламация**

Для получения технической консультации и поддержки просьба обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории Российской Федерации:

АО «ПРИБОРЫ»

Адрес: 109028, город Москва, Певческий пер., д. 4 стр. 1, помещ. I, комната 10

Тел./факс: +7 (495) 937-45-94/ +7 (495) 937-45-92

e-mail: info@pribori.com

В случае выявления побочных действий, не указанных в инструкции по применению или руководстве по эксплуатации медицинского изделия, нежелательных реакций при его применении, особенностей взаимодействия медицинских изделий между собой, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации медицинских изделий, необходимо направить сообщение, содержащее указанные сведения, в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения в соответствии с действующим законодательством.

### **Перечень применяемых производителем (изготовителем) медицинского изделия национальных стандартов**

| № | НАЗВАНИЕ ДОКУМЕНТА                                                   |
|---|----------------------------------------------------------------------|
| 1 | EN ISO 13485:2016 Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. |

|    |                                                                                                                                                                                                         |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Требования к регулированию                                                                                                                                                                              |
| 2  | EN ISO 13612:2002 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro                                                                                                      |
| 3  | EN ISO 23640:2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro                                                                                  |
| 4  | EN 13641:2002 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.                                                                                            |
| 5  | EN ISO 14971:2019 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям                                                                                                              |
| 6  | EN ISO 18113-1:2022 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования                              |
| 7  | EN ISO 18113-2:2022 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения   |
| 8  | EN ISO 15223-1:2021 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования                       |
| 9  | EN ISO 17511:2021 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибратором и контрольным материалам. |
| 10 | Директива Европейского парламента и совета Европы 98/79/ЕС от 27 октября 1998 года                                                                                                                      |

**Данные о выпуске или последнем пересмотре инструкции по применению**

Выпуск инструкции по применению был осуществлен 23.05.2023 года.

Версия инструкции № 007.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### Взвешенная линейная регрессия

Взвешенная линейная регрессия предполагает использование *метода наименьших квадратов*. Метод наименьших квадратов предусматривает выбор линии предопределения:

$$f(x) = \alpha + \beta x_{ij}$$

которая обеспечивает минимизацию суммы квадратов ошибок модели

$$\sum_{i=1}^n w_j (y_j - f(x_{ij}))^2, \text{ где}$$

$n$  = число реплик  $i$  калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators)  $j$ ,

$x_{ij}$  = замеренный ответ в точке реплики  $i$  для калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators)  $j$ ,

$y_j$  = средний ответ по репликам калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators)  $j$ ,

$w_j$  = взвешенное значение калибратора биотинидазы (Biotinidase Calibrators)  $j$

Взвешенные значения  $w_j$  рассчитываются по формулам:

$$w_j = \frac{1}{\Delta y_j^2} \quad \text{и}$$

$$\sum_{j=1}^m w_j = m$$

где:

$$\Delta y_j = M \pm Y \left( \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{ij} - y_j)^2}{(m)(m-1)}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n (y_j \cdot \varepsilon_{ij} / 100)^2}{m}} \right)$$

где:

$x_{ij}$  = замеренный ответ в точке реплики  $i$  для калибратора  $j$ ,

$y_j$  = средний ответ по репликам калибратора  $j$ ,

$\varepsilon_{ij}$  = ошибка измерений (в процентах) в точке  $i$  для калибратора  $j$  (Стандарт 1%)

и

$m$  = число калибраторов

Метод наименьших квадратов включает оценки данных  $\alpha$  и  $\beta$ , что приводит к минимизации суммы квадратов ошибок. Расчет оценки  $\alpha$  и  $\beta$  производится по формулам:

$$\alpha = \frac{\sum_{j=1}^m w_j y_j}{m} - \frac{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n w_j x_{ij}}{n} \beta$$

И

$$\beta = \frac{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n w_j x_{ij} y_j - \frac{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n w_j x_{ij} \sum_{j=1}^m w_j y_j}{m}}{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n w_j x_{ij}^2 - \frac{\left( \sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n w_j x_{ij} \right)^2}{n}}$$

$$\alpha = \frac{\sum_{i=1}^n w_i y_i}{n} - \frac{\sum_{i=1}^n w_i x_i}{n} \beta.$$

## APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Maa: Suomi  
Land: Finland  
Country:

Tämän yleisen asiakirjan  
Denna allmänna handling  
This public document

2. on allekirjoittanut  
är undertecknad av  
has been signed by

Kaisa Myrsky

3. toimiessaan  
i egenskap av  
acting in the capacity of

District Registrar, Notary Public.

4. Siinä oleva leima/sinetti on  
är försedd med stämpel/sigill av  
Bears the seal/stamp of

The Digital and Population Data Services Agency.

Todistetaan  
Intygas  
Certified

5. i  
at Turku

6. den 27.11.2023  
the

7. av  
by Marianne Kaski, District Registrar, Notary Public

8. No T 2064/2023  
Nr

9. Sinetti/Leima:  
Sigill/stämpel:  
Seal/Stamp:



10. Allekirjoitus:  
Underskrift:  
Signature:

Tämä Apostille todistaa ainoastaan allekirjoituksen oikeaperäisyyden, missä ominaisuudessa yleisen asiakirjan allekirjoittaja on toiminut ja tarvittaessa yleisessä asiakirjassa olevan sinetin tai leiman.  
Apostille ei todista oikeaksi sen asiakirjan sisältöä, johon se on liitetty.

Denna Apostille bevisar endast äktheten av underskriften och i vilken egenskap undertecknaren av det allmänna dokumentet har verkat, samt vid behov även äktheten av sigillet eller stämpeln i det allmänna dokumentet.  
Apostillen bevisar ej äktheten av dokumentets innehåll till vilket det är bifogat.

This Apostille only certifies the authenticity of the signature and the capacity of the person who has signed the public document, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp which the public document bears.  
This Apostille does not certify the content of the document for which it was issued.

/круглая печать/: WALLAC OY (ВАЛЛАК ОЮ), FI09371684, Турку, Финляндия

/штамп/:

На основании сведений из Торгового реестра Финляндии я подтверждаю, что Петри Каллио (Petri Kallio) имеет право единолично представлять компанию Wallac Oy (Валлак Ою), а также удостоверяю, что он собственноручно подписал данный документ.

Турку, Финляндия

27 ноября 2023 года

Оплачена пошлина 20 евро.

/подписано/

/штамп/:

КАИСА МИРСКИ

Государственный нотариус, Районный регистратор

/круглая печать/: WALLAC OY (ВАЛЛАК ОЮ), FI09371684, Турку, Финляндия

/штамп/:

На основании сведений из Торгового реестра Финляндии я подтверждаю, что Петри Каллио (Petri Kallio) имеет право единолично представлять компанию Wallac Oy (Валлак Ою), а также удостоверяю, что он собственноручно подписал данный документ.

Турку, Финляндия

27 ноября 2023 года

Оплачена пошлина 20 евро.

/подписано/

/штамп/:

КАИСА МИРСКИ

Государственный нотариус, Районный регистратор

## АПОСТИЛЬ

Гаагская конвенция от 5 октября 1961 года

1. Страна: Финляндия

Настоящий официальный документ

2. был подписан КАИСА МИРСКИ  
3. выступающий/-ей в качестве Государственного нотариуса, Районного регистратора  
4. скреплен печатью/штампом Агентства цифровой информации и учета населения

Удостоверено

5. в Турку 6. (дата) 27.11.2023  
7. (кем) Марианной Каски, районным регистратором, Государственным нотариусом  
8. за № Т 2064 / 2023

9. Печать/штамп: 10. Подпись:  
/Агентство цифровой информации и учета населения/ /подписано/

Настоящий апостиль заверяет только подлинность подписи и правомочность лица, подписавшего настоящий официальный документ, и, где применимо, подлинность печати или штампа, поставленных на данном официальном документе. Настоящий апостиль не заверяет содержимое документа, на который он был проставлен.

/круглая печать/: Агентство цифровой информации и учета населения

4  
Перевела с английского и финского языков на русский язык  
переводчик Бояренкова Надежда Викторовна

ПОДПИСЬ

Российская Федерация

Город Москва

Шестого декабря две тысячи двадцать третьего года.

Я, Гуркина Екатерина Владимировна, временно исполняющая обязанности  
нотариуса города Москвы Макаренко Алексея Алексеевича, свидетельствую  
подлинность подписи переводчика Бояренковой Надежды Викторовны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/337-н/77-2023- **9-93**

Уплачено за совершение нотариального действия: 400 руб. 00 коп.

ПОДПИСЬ Е.В. Гуркина  
ГЕРБОВАЯ ПЕЧАТЬ  
НОТАРИУСА

Всего прошито, пронумеровано  
и скреплено печатью 20 (двадцать) листов.

ПОДПИСЬ Е.В. Гуркина  
ГЕРБОВАЯ ПЕЧАТЬ  
НОТАРИУСА



Российская Федерация

Город Москва

Шестого декабря две тысячи двадцать третьего года.

Я, Гуркина Екатерина Владимировна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы,  
Макаренко Алексея Алексеевича, свидетельствую верность копии с представленного мне документа.

Зарегистрировано в реестре: № 77/337-н/77-2023- **9-94**

Уплачено за совершение нотариального действия: **3700** руб. 00 коп.



Е.В. Гуркина

Всего прошито, пронумеровано  
и скреплено печатью 20 (двадцать) листов.

Е.В. Гуркина