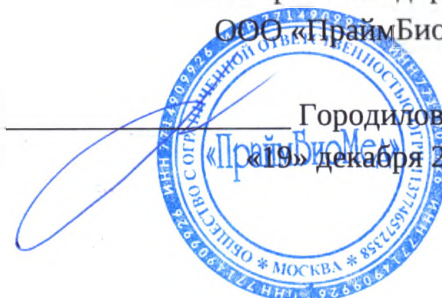


УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ПраймБиоМед»

Городилова Е.С.
«19» декабря 2023 г.



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*

«Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими
методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23–012-17782202-2022»

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

введена впервые

Дата введения в действие 19 декабря 2023г.

Без ограничения срока действия

Москва - 2023 г.

1. Медицинское изделие.

Настоящая инструкция относится к медицинскому изделию для диагностики *in vitro* «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022»

Изделие выпускается в четырех вариантах исполнения:

1. «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» 0,1 мл, концентрированный;
2. «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» 0,5 мл, концентрированный;
3. «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» 1 мл, концентрированный;
4. «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» 7 мл, готовый к использованию.

Класс потенциального риска применения медицинского изделия – 2б.

Вид медицинского изделия – 347100. PMS2 белок ИВД, антитела (Один или множество иммуноглобулинов, способных связываться со специфическими антигенными детерминантами, предназначенных для использования при качественном и/или количественном определении белка PMS2 (postmeiotic segregation increased 2), белка репарации неспаренных оснований ДНК, в клиническом образце.).

Код ОКПД-2 – 21.20.23.110 – Реагенты диагностические.

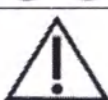
Регистрационное удостоверение Росздравнадзора – _____ от ____ 20__.

Предназначен для диагностики *in vitro* только для профессионального применения.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач-патологоанатом или врач клинической диагностики.

Для применения в клиничко-диагностических центрах и лабораториях, онкологических диспансерах, онкологических центрах, онкологических отделениях стационарных медицинских организаций.

Маркировка изделия «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» содержит следующую информацию:

Наименование изготовителя	 ООО «ПраймБиоМед». 117246, Москва, Научный пр., 20, стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, +7(495)645-4425
Наименование изделия	«Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022»
Номер серии	Серия ГММXXXXX
Каталожный номер	Кат. 10-310063-XX
Срок годности	 ММ/ТТГГТТ
Условия хранения	 8°C 2°C
Надпись (или знак) «только для диагностики in vitro»	IVD
Знак «биологический риск»	
Обратитесь к инструкции	
Проклин 300	
Номер ТУ	ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
Номер РУ	РУ от ДД.ММ.ГГГГ
Состав медицинского изделия для диагностики in vitro «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022»:	
Кроличыи антитела к белку PMS2, клон PBM-02R: раствор иммуноглобулинов кролика IgG, в 0,05М трис-HCl буфере, pH 7.2-7.6 с добавлением бычьего сывороточного альбумина (БСА) (1%) и проклина 300 (0,05%)	0,1 мл; 0,5 мл; 1 мл; 7 мл
Методические рекомендации по использованию	1 шт.
Паспорт	1 шт.

2. Производитель медицинского изделия.

«Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (далее по тексту – изделие) производится компанией ООО «ПраймБиоМед» (117246, Москва, Научный пр., 20, стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, +7(495)645-4425).

3. Назначение медицинского изделия.

Вспомогательная диагностика онкологических заболеваний.

«Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» используется для in vitro

качественного выявления белка PMS2 в клетках срезов нормальных и опухолевых тканей человека с помощью иммуногистохимических методов.

PMS2 состоит из 862 аминокислот и имеет молекулярную массу 95,8 кДа.

Белок PMS2 является одним из компонентов системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair system, MMR). Ключевая роль PMS2 заключается в исправлении ошибок, возникающих при репликации ДНК и гомологичной рекомбинации. Белок PMS2, соединяясь с белком MLH1, формирует двухбелковый комплекс (димер). Этот комплекс координирует деятельность других белков, которые участвуют в исправлении ошибок спаривания во время репликации ДНК. При этом участок ДНК, содержащий ошибки, удаляется и заменяется на участок с исправленной последовательностью нуклеотидов.

Краткое описание: Система репарации неспаренных оснований ДНК (mismatch repair system, MMR) — это молекулярный механизм, цель которого заключается в исправлении неправильных замен нуклеиновых оснований, спонтанно происходящих во время репликации ДНК. Считается, что за дефекты в механизме MMR ответственны мутации в белках MMR, чаще всего в MLH1, PMS2, PMS2 и MSH6.

Обычно белки PMS2 и MLH1 и взаимодействуют в гетеродимерном комплексе, как и белки MSH2 и MSH6. Если MMR функционирует нормально, гетеродимер MSH6/MSH2 связывается с неспаренным основанием ДНК. Это связывание обуславливает конформационное изменение, которое позволяет гетеродимеру MLH1/PMS2 связывать ДНК-связанный комплекс MSH6/MSH2, что приводит к удалению повреждённого участка ДНК. Мутации или дефицит этих белков приводят к MSI (микросателлитной нестабильности) и соматическим мутациям из-за ошибок репликации.

Информация о предназначении для клинической лабораторной диагностики.

Область применения: клиничко-диагностические центры и лаборатории, онкологические диспансеры, онкологические центры, онкологические отделения стационарных медицинских организаций.

Предназначен для диагностики *in vitro* только для профессионального применения.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач-патологоанатом или врач клинической диагностики.

4. Состав медицинского изделия.

В комплект поставки изделия входят:

- потребительская упаковка с наклеенной этикеткой;
- реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022;

- методические рекомендации по использованию;
- паспорт.

Инструкция на бумажном носителе может быть заменена инструкцией на электронном носителе и размещена на сайте производителя www.primebiomed.ru.

Допускается вкладывать одну инструкцию по применению, если поставляется несколько изделий одному заказчику по одному адресу.

Примечание: краткая инструкция по применению – приложение Б к инструкции по применению - «методические рекомендации» вложена в потребительскую упаковку.

5. Предупреждения и предосторожности.

Изделие предназначено только для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике *in vitro*.

Изделие содержит проклин 300 (Proclin 300) - антибактериальный препарат, который при контакте с кожей может вызвать аллергическую реакцию.

К работам с изделием допускаются врачи-патологоанатомы или врачи клинической диагностики.

Изделие не предназначено для самотестирования потребителем.

Запрещается использовать изделие при нарушении целостности его упаковки (деформации пробирки/флакона, наличия трещин, вытекании части реагента и т.д.).

Запрещается использовать изделие при наличии взвеси, мутности, выпадении осадка.

Запрещается использовать изделие после истечения срока годности, указанного на индивидуальной этикетке.

Запрещается применение изделий, хранящихся в незакрытых пробирках/флаконах.

Запрещается применение изделия при отсутствии этикеток.

Не допускается нарушение условий хранения, транспортирования и эксплуатации изделия.

Не допускается попадание прямых солнечных лучей на флаконы/пробирки с изделием.

Образцами для исследований посредством изделия являются срезы ткани человека, зафиксированные в формалине и залитые в парафин (FFPE). При работе с изделием следует надевать спецодежду (халаты) и одноразовые резиновые перчатки и соблюдать правила работы в клинической лаборатории, так как срезы тканей человека следует рассматривать как потенциально инфицированные.

Все этапы работы следует проводить только с использованием одноразовых расходных материалов: наконечников для автоматических пипеток, перчаток и т.д. Следует менять наконечники при переходе от реагента к реагенту.

Использованные пробирки и наконечники должны сбрасываться в специальные контейнеры.

Меры предосторожности при работе с изделием – соблюдение правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», ГОСТ Р 52905.

6. Информацию о предназначении медицинского изделия только для однократного применения по назначению.

Повторное использование изделия не допускается.

7. Содержание лекарственных средств для медицинского применения, материалов животного и (или) человеческого происхождения.

Реагент изготовлен из материалов и веществ, не содержащих лекарственных средств для медицинского применения и материалов человеческого происхождения.

Реагент содержит материалы животного происхождения:

- кроличьи антитела (производная клеточной жидкости (супернатанта) эукариотических клеток);
- бычий сывороточный альбумин (производная крови).

8. Информация о стерильном состоянии медицинского изделия.

Не стерильно. Не требует обеспечения особого микробиологического состояния.

9. Условия транспортировки, утилизации, хранения и эксплуатации изделия.

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

Транспортирование изделий должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при соблюдении температуры хранения.

Замораживание изделий при транспортировке не допускается.

При транспортировании, осуществлении погрузки и выгрузки наборов должны быть приняты меры, предохраняющие тару от механических повреждений, воздействия атмосферных осадков, горючих материалов и кислот.

Назначение изделия и способы его использования должны соответствовать указаниям настоящей инструкции по применению, а также общим требованиям по безопасности и качеству клинических исследований в соответствии с ГОСТ Р 52905, ГОСТ 12.1.008, ГОСТ Р ИСО 15189 и ГОСТ Р 53079.2, ГОСТ 12.1.004 и ГОСТ 12.1.010.

Контроль биозагрязнений в лаборатории должен осуществляться в соответствии с ГОСТ ИСО 14698-1.

10. Информация, необходимая для идентификации медицинских изделий с целью получения безопасной комбинации.

Изделие используется самостоятельно и не требует создания каких-либо комбинаций с другими медицинскими изделиями.

11. Требования к помещениям.

Изделие следует применять в контролируемых климатических условиях:

- } температура 18-28°C;
- } относительная влажность не выше 60 %;
- } давление 84-106 кПа (630-795 мм рт. ст.).

12. Принципы метода исследования.

Определение основано на принципе иммуногистохимического анализа. Иммуногистохимия является дополнительным методом исследования, применяемым в патологической анатомии при диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований. Иммуногистохимия основана на выявлении в анализируемом образце ткани белков, специфичных для того или иного вида клеток, что позволяет отличать один вид опухоли от другого, а также выявлять маркеры, отвечающие за лекарственную чувствительность опухолевой ткани и прогноз заболевания. Основой ИГХ-метода является иммунологическая реакция антиген - антитело. Антитела связываются с антигенами и позволяют обнаружить клетки тканей человека с экспрессией интересующего белка. Клетки тканей, содержащие определяемый антиген, окрашиваются в месте его локализации с образованием окрашенного преципитата. Локализация и структура окрашивания оцениваются с помощью светового микроскопа.

13. Ограничения методики исследования.

Для использования в ручных методах окраски. При использовании в автоматических системах окраски оптимальный протокол подбирается индивидуально в каждой лаборатории.

Предназначено для работы с тканями, фиксированными в формалине и залитыми в парафин (FFPE). При работе с замороженными срезами или клеточными препаратами оптимальный протокол подбирается индивидуально в каждой лаборатории.

14. Характеристики клинической эффективности: диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность

Определения согласно ГОСТ Р ИСО 18113-1:

А.3.15 Диагностическая чувствительность (diagnostic sensitivity): Способность методики диагностического исследования *in vitro* идентифицировать присутствие целевого маркера, сочетающегося с конкретной болезнью или состоянием.

А.3.16 Диагностическая специфичность (diagnostic specificity): Способность методики диагностического исследования *in vitro* распознавать отсутствие целевого маркера конкретной болезни или состояния.

А.3.42 Прогностическое значение (predictive value): Вероятность того, что лицо, у которого имеется положительный результат исследования, находится в состоянии, которое изучается, и что лицо, у которого имеется отрицательный результат исследования, не находится в состоянии, которое изучается.

Примечания.

1 При скрининговых исследованиях предсказательное значение определено диагностической чувствительностью (А.3.15) и диагностической специфичностью (А.3.16) методики исследования и преобладанием (распространенностью) состояния, для которого проводится исследование.

2 Преобладание (распространенность) означает частоту изучаемого состояния выраженную как процент (числовая доля, умноженная на 100) от общего числа лиц (тех кто имеет искомое состояние, плюс тех, у кого нет искомого состояния) в изучаемой популяции.

3 Предсказательное значение положительных результатов исследования [PV(+)] показывает, насколько эффективно исследование отделяет истинно положительные результаты от ложно положительных для данного целевого состояния (А.3.55) в данной популяции.

4 Предсказательное значение отрицательных результатов исследования [PV(-)] показывает, насколько эффективно исследование отделяет ИП результаты от ЛП для данного целевого состояния в данной популяции.

А.3.55 целевое (изучаемое) состояние (target condition, condition of interest): Болезнь, стадия болезни, состояние здоровья или другие различимые состояния, события или характеристики пациента, включая определение стадии уже известной болезни или состояния здоровья, которые должны побудить начать, изменить или закончить лечение или другие клинические действия.

Положительное отношение правдоподобия – доля истинно-положительных результатов относительно всех положительных результатов. Отношение правдоподобия положительного результата.

Отрицательное отношение правдоподобия – доля истинно-отрицательных результатов относительно всех отрицательных результатов. Отношение правдоподобия отрицательного результата.

Относительное число ложноположительных результатов – показывает частоту с которой данная методика допускает ошибки, определяя нормальное состояние как паталогическое.

Относительное число ложноотрицательных результатов – показывает частоту с которой данная методика допускает ошибки, определяя патологическое состояние как нормальное.

Сравнение изделий «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» с «Первичным мышинным моноклональным антителом для качественного обнаружения белка PMS2 иммуногистохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark (VENTANA MMR IHC Panel: VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody)», производства "Рош Диагностике ГмбХ", (Roche Diagnostics GmbH), Германия; РЗН 2020/13153 (далее по тексту- реагент VENTANA anti-PMS2 (A16-4), проводили при качественном определении белка PMS2 в образцах ткани пациентов.

С использованием изделий «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (концентрированный), «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (готовый к использованию) и реагентом VENTANA anti-PMS2 (A16-4), было параллельно проанализировано 25 образцов с неизменной экспрессией PMS2 и 25 образцов с потерянной экспрессией PMS2). Результаты исследований для изделия «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (концентрированный) и реагента VENTANA anti-PMS2 (A16-4) представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица № 1.

		реагент VENTANA anti-PMS2 (A16-4)	
		Позитивный результат	Негативный результат
«Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022», концентрированный	Позитивный результат	TP 25	FP 0
	Негативный результат	FN 0	TN 25

Таблица № 2.

Чувствительность, %	100 (86,28-100,0)
Специфичность, %	100 (86,28-100,0)
Прогностичность положительного результата	100 (86,28-100,0)
Прогностичность отрицательного результата	100 (86,28-100,0)
Относительное число ложноотрицательных результатов	0

Относительное число ложноположительных результатов	0
Положительное отношение правдоподобия	-
Отрицательное отношение правдоподобия	0

Результаты исследований для изделия «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23–012 17782202-2022» (готовый к использованию) и реагента VENTANA anti-PMS2 (A16-4) представлены в таблицах 3 и 4:

Таблица № 3

		реагент VENTANA anti-PMS2 (A16-4)	
		Позитивный результат	Негативный результат
«Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23–012-17782202-2022», готовый к использованию	Позитивный результат	TP 25	FP 0
	Негативный результат	FN 0	TN 25

Таблица № 4

Чувствительность, %	100 (86,28-100,0)
Специфичность, %	100 (86,28-100,0)
Прогностичность положительного результата	100 (86,28-100,0)
Прогностичность отрицательного результата	100 (86,28-100,0)
Относительное число ложноотрицательных результатов	0
Относительное число ложноположительных результатов	0
Положительное отношение правдоподобия	-
Отрицательное отношение правдоподобия	0

15. Функциональные (аналитические) характеристики

16.1 Повторяемость и воспроизводимость измерения

16.1.1 Повторяемость измерения

Согласно ГОСТ Р ИСО 18133-2: А.3.30 Повторяемость измерения (measurement repeatability, repeatability): Прецизионность измерений при совокупности условий измерения, которые включают в себя одну и ту же методику измерения, одну и ту же измерительную систему, одних и тех же операторов, одни и те же условия выполнения операций, то же место и параллельные измерения одного и того же или сходного объекта за короткий период времени.

Условия повторяемости были выполнены следующим образом: одна испытательная площадка, один оператор, одна аналитическая серия «Реагент для

выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (концентрированный) (изделие 1) и одна аналитическая серия «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (готовый к использованию) (изделие 2). В качестве анализируемых образцов используются 10 срезов с Контрольного образца №17 (PMS2 положительный контроль) и 10 срезов с Контрольного образца №18 (PMS2 отрицательный контроль). Результаты расчета повторяемости измерения для изделия 1 приведены в таблицах 5 и 6, для изделия 2 в таблице 7 и 8.

Таблица № 5.

		Контрольный образец №18	Контрольный образец №17
		-	+
Контрольный образец №18	-	10	0
Контрольный образец №17	+	0	10

Примечание – Знак «-» указывает на отсутствие ядерной окраски; «+» на наличие ядерной окраски.

Таблица № 6.

Повторяемость измерения (Количество соблюденных согласий)	100 (100,00% наблюдений)
95% доверительный интервал	от 1.000 до 1.000

Таблица № 7.

		Контрольный образец №18	Контрольный образец №17
		-	+
Контрольный образец №18	-	10	0
Контрольный образец №17	+	0	10

Примечание – Знак «-» указывает на отсутствие ядерной окраски; «+» на наличие ядерной окраски.

Таблица № 8.

Повторяемость измерения (Количество соблюденных согласий)	100 (100,00% наблюдений)
95% доверительный интервал	от 1.000 до 1.000

16.1.2 Воспроизводимость измерения

А.3.31 Воспроизводимость измерения (measurement reproducibility, reproducibility):

Прецизионность измерений при совокупности условий измерения, которые включают в себя различные место, операторов, измерительные системы и параллельные измерения одного и того же или сходного объектов.

Условия воспроизводимости были выполнены следующим образом: две испытательные площадки, два оператора, по 3 аналитические серии (1 флакон одного лота, 2 флакона другого лота) «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (концентрированный) (изделие 1) и «Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» (готовый к использованию) (изделие 2). В качестве анализируемых образцов используются

30 срезов с Контрольного образца №17 (PMS2 положительный контроль) и 30 срезов Контрольного образца №18 (PMS2 отрицательный контроль). Результаты расчет воспроизводимости измерения для изделия 1 приведены в таблицах 9 и 10, для изделия 2 в таблицах 11 и 12.

Таблица № 9

		Контрольный образец №18	Контрольный образец №17
		-	+
Контрольный образец №18	-	30	0
Контрольный образец №17	+	0	30

Примечание – Знак «-» указывает на отсутствие ядерной окраски; «+» на наличие ядерной окраски.

Таблица № 10

Воспроизводимость измерения (Количество соблюденных согласий)	100 (100,00% наблюдений)
95% доверительный интервал	от 1.000 до 1.000

Таблица № 11

		Контрольный образец №18	Контрольный образец №17
		-	+
Контрольный образец №18	-	30	0
Контрольный образец №17	+	0	30

Примечание – Знак «-» указывает на отсутствие ядерной окраски; «+» на наличие ядерной окраски.

Таблица № 12

Воспроизводимость измерения (Количество соблюденных согласий)	100 (100,00% наблюдений)
95% доверительный интервал	от 1.000 до 1.000

16.2 Аналитическая специфичность

Рекомбинантные кроличьи антитела обладают более высокой специфичностью и аффинностью по отношению к определяемому ими антигену, чем мышинные моноклональные антитела. Каждое антитело узнает только свой антиген, точнее, одну его детерминантную группу. Детерминантная группа состоит из нескольких аминокислот (обычно из 6–8), образующих пространственную структуру, характерную для данного белка.

В основе метода получения рекомбинантных кроличьих антител лежит клонирование генов антиген-специфичных антител, полученных из кролика в экспрессионные векторы. Полученные экспрессионные векторы (плазмиды), несущие ген легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов, соответственно, трансфицируют в клетки млекопитающих, тем самым обеспечивая экспрессию антител в клеточную среду. Из полученной клеточной жидкости (супернатанта) выделяются наработанные рекомбинантные антитела, проверяются иммуноферментным и иммуногистохимическим методом.

Данная технология обеспечивает наработку чистых антител, специфичность, стабильность и качество которых не меняется от серии к серии. Такие антитела не содержат

посторонних антител и настолько однородны физико-химически, что могут рассматриваться как чистые химические реактивы.

Также необходимо отметить, что кроличьи рекомбинантные антитела, обладающие максимальной специфичностью, не обладают перекрестной реактивностью при соблюдении протокола окрашивания, таким образом, обеспечивая 100% аналитическую специфичность в распознавании данного антигена (PMS2) при соблюдении протокола окрашивания.

Список литературы:

1. Альтшулер ЕП, Серебряная ДВ, Катруха АГ. Получение рекомбинантных антител и способы увеличения их аффинности. Успехи биологической химии 2010; 50: 203-58
2. Starkie, D. O., Compson, J. E., Rapecki, S., & Lightwood, D. J. (2016). Generation of Recombinant Monoclonal Antibodies from Immunised Mice and Rabbits via Flow Cytometry and Sorting of Antigen-Specific IgG+ Memory B Cells. PloS one, 11(3), e0152282. Ярилин, А. А. Иммунология / Ярилин А. А. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с. - ISBN 978-5-9704-1319-7.
3. Стереоспецифические взаимодействия. Инструментальные и неинструментальные методы в иммуноаналитике [Электронный ресурс] : учебное пособие / П. В. Храмцов, М. Б. Раев, С. А. Заморина ; Пермский государственный национальный исследовательский университет. – Электронные данные. – Пермь, 2020
4. Иммуногистохимические методы: Руководство / Ed. by George L. Kumar, Lars Rudbeck: DAKO / Пер. с англ. под ред. Г.А.Франка и П.Г.Малькова. – М., 2011. – 224 с.
5. Ярилин, А. А. Иммунология / Ярилин А. А. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с. - ISBN 978-5-9704-1319-7.

Также для подтверждения аналитической специфичности были проведены покраски контрольных образцов (клеточные линии с экспрессией или отсутствием экспрессии PMS2), что подтверждается актом квалификационных испытаний № 9 от 17 августа 2023 г.

16. Контроль качества

Каждый раз при иммуногистохимическом окрашивании следует использовать положительный контроль для определения качества работы используемых реагентов. Если на контрольном образце не выявляется окрашивание, следует признать недействительными результаты окрашивания всех остальных образцов. Отрицательный контроль следует использовать для выявления неспецифического окрашивания. Ткани положительного и отрицательного контроля подбираются индивидуально в каждой лаборатории.

17. Анализируемые образцы. Сбор и подготовка образцов

Для исследования используются срезы (на стеклах) с парафиновых блоков тканей человека, фиксированных в нейтральном формалине (FFPE) не более 72 часов и залитых в парафин (FFPE). Толщина срезов не должна превышать 5 мкм.

18. Подготовка медицинского изделия к эксплуатации.

«Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022 концентрированный (кат. 10-310063-01, 10-310063-05, 10-310063-1). Пере использованием, разведите антитела в пропорции от 1:20 до 1:100 (указано в инструкции первичным антителам), используя разбавитель антител (например, (PRIME Diluent TBS бесцветный, ООО «ПраймБиоМед»). При использовании других разбавителей антител системы детекции разведение можно варьировать, и оно должно определяться заново в каждом отдельном случае.

19. Необходимые, но не поставляемые оборудование и материалы для проведения иммуногистохимического анализа.

Для работы с «Реагентом для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022 необходимо использовать эти или аналогичные материалы и оборудование:

- Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018 pH 5,0-7,0;
- Исследуемые FFPE блоки тканей человека (самостоятельно изготавливается лабораторией);
- буфер для демаскировки должен быть допущен к обращению на территории РФ в установленном порядке, как например «Буфер (PRIME HIER)» для иммуногистохимической высокотемпературной демаскировки антигенных эпитопов по ТУ 21.20.23-016-17782202-2022, вариант исполнения № 5: Буфер (PRIME HIER), трис-ЭДТА, pH 9, № 14: Буфер (PRIME HIER), TRIO (3 в 1), pH концентрированный (15X), ООО «ПраймБиоМед», Россия,
- Буфер для промывки должен быть допущен к обращению на территории РФ в установленном порядке, как например Буфер для промывки (PRIME Wash) для проведения иммуногистохимических исследований по ТУ 21.20.23-014-17782202-2022, производство ООО «ПраймБиоМед», Россия;
- Разбавитель первичных антител, например, «Разбавитель первичных антител (PRIME Diluent)» для проведения иммуногистохимических исследований по ТУ 21.20.23-017-17782202-2022, вариант исполнения: 3. Разбавитель первичных антител (PRIME Diluent TBS) ООО «ПраймБиоМед», Россия
- Набор для детекции, должен быть допущен к обращению на территории Российской Федерации в установленном порядке, как например: «Набор реагентов Универсальная двухстадийная система детекции PrimeVision (антитела к IgG мыши/кролика - HRP/DAPI для проведения иммуногистохимических исследований, по ТУ 21.20.23-006-17782202-2022 варианты исполнения»; РУ РЗН 2022/16773 от 30.03.2022; номер по каталогу 78-310004-1) производитель ООО «ПраймБиоМед», Россия;
- Гематоксилин, зарегистрированный в РФ в установленном порядке, как например «Реагенты для проведения пробоподготовки, окрашивания и заключения под покровное стекло гистологических и цитологических препаратов по ТУ 9398-001-89079081-2012; РЗН № РЗН 2013/775 от 23.03.2015, ООО «ЭргоПродакшн», Россия;
- Среда для заключения препаратов, зарегистрированная в РФ в установленном порядке, как например «Реагенты для проведения пробоподготовки, окрашивания и заключения под покровное стекло гистологических и цитологических препаратов по ТУ

9398-001-89079081-2012: 89.Витрогель»; РУ № РЗН 2013/775 от 23.03.2015, ООО «ЭргоПродакшн», Россия;

- Фильтровальная бумага или бумажные полотенца;
- Емкости для окрашивания и промывки (ГОСТ 1770-74);
- Влажная камера;
- Гидрофобный карандаш зарегистрированный в РФ в установленном порядке, как например, Элит ПАП Пен, РУ № ФСЗ 2008/02512 от 24.01.2017 от 06.06.2019, Diagnostik BioСистемс, Инк., США;

- Термостат/инкубатор, зарегистрированный в РФ в установленном порядке, например, «Инкубаторы лабораторные, серии Heratherm с принадлежностями» в исполнении IGS60, производства "Термо Электрон Эл-И-Ди ГмбХ", Германия, РУ № ФСЗ 2011/11011 от 03.03.2007

- Ортоксилол, зарегистрированный в РФ в установленном порядке, например, «Растворы для гистологической проводки ГИСТОПОИНТ по ТУ 9398-002-09659054-2015: 6. Ортоксилол ГИСТОПОИНТ, объем упаковки 1 л, 3 л, 5 л, 10 л.»; РУ № РЗН 2017/5912 от 29.12.2018, ООО «МедТехникаПоинт», Россия.

- Изопропанол, зарегистрированный в РФ в установленном порядке, например, «Растворы для гистологической проводки ГИСТОПОИНТ по ТУ 9398-002-09659054-2015: 1. Изопропанол ГИСТОПОИНТ, объем упаковки: 1 л, 3 л, 5 л, 10 л.»; РУ № РЗН 2017/5912 от 29.12.2018, ООО «МедТехникаПоинт», Россия.

- Стекла для микропрепаратов, зарегистрированные в РФ в установленном порядке, например, «Стекла для микропрепаратов по ТУ 9464-012-52876859-2014: Стекло покровное 24x50x0,17 мм»; РУ № РЗН 2015/2981 от 16.12.2021, ООО «МиниЛаб», Россия.

- Стекла предметные, зарегистрированные в РФ в установленном порядке, например, Стекла предметные Superfrost plus с углами 90° с адгез. покрытием 25x75x1 мм (72 шт/уп) ООО "МедМониторинг", Россия, РУ № РЗН 2015/3107 от 11.10.2022

- Таймер лабораторный, например, «Дельталаб С.Л.», Испания.

- Оборудование для депарафинизации и демаскировки, например, баня-термостат водяная WB-4MS, «СИА «Биосан»», Латвия; РУ № ФСЗ 2011/09793 от 25.05.2011

- дозаторы переменного объема;

- наконечники универсальные для дозаторов;

- Световой микроскоп общего назначения, с диафрагмой с градуировкой положений для объективов 4x, 10x, 40x, разрешающая способность 0,4 мкм., например, «Микроскопы биологические MtPoint по ТУ 4435-001-09659054-2016 в вариантах исполнения BioBlue, BioBlue.Lab, iScope, Oxion с принадлежностями: I. Микроскоп биологический MtPoint BioBlue »; РУ № РЗН 2019/8350 от 07.05.2019. ООО «МедТехникаПоинт» (Россия);

- Микротом ротационный, зарегистрированный в установленном порядке, например: «Микротом ротационный серии НМ300 с принадлежностями», вариант исполнения: 2. НМ 355 S, производства "Шендон Диагностикс Лтд. (подразделение компании Эпредиа)", Великобритания, РУ № ФСЗ 2011/10267 от 06.12.2022

- Нагревательный столик, зарегистрированный в РФ в установленном порядке, например, «Столик с электроподогревом и возможностью поддержания стабильной температуры при сушке морфологических препаратов "МИКРОСТАТ-30/80" по ТУ 9452-003-48583880-2003»; РУ № ФСР 2012/13496 от 22.04.2016, ООО «КБ Техном» (Россия).

- Ванночка с электроподогревом, зарегистрированная в РФ в установленном порядке, например, «Ванночка с электроподогревом и возможностью регулирования температуры для расплавления морфологических препаратов "СЛАЙДБАНЯ-30/60" по ТУ 9452-004-48583880-2003»; РУ № ФСР 2012/13495 от 22.04.2016.

20. Порядок выполнения иммуногистохимического анализа.

1. Образцы для исследований: срезы с блоков FFPE клеточных линий и тканей человека.

2 Подготовка реагентов

«Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022», готовый к использованию (кат. 10-310063-7) поставляется в готовом виде и не требует разведения.

«Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022» концентрированный (кат. 10-310063-01, 10-310063-05, 10-310063-1): перед использованием разведите антитела в пропорции от 1:20 до 1:100, используя разбавитель антител (например (PRIME Diluent), ООО «ПраймБиоМед»). Оптимальное разведение может варьировать в зависимости от исследуемого образца и используемой системы детекции и должно определяться заново в каждом отдельном случае.

3 Процедура анализа

3.1 Шаг 1. Подготовительный этап

3.1.1 Для лучшей депарафинизации срезы инкубируют в термостате при температуре плюс 60°C в течение 30 минут.

3.1.2 Депарафинизация и регидратация срезов тканей производится следующим образом:

- 1) ксилол: две смены по 10 минут в каждой;
- 2) 100% изопропанол: две смены по 5 минут в каждой;
- 3) 70% изопропанол: 5 минут;
- 4) 50% изопропанол: 5 минут;
- 5) дистиллированная вода: промыть два раза.

После проведения 100 стёкол следует провести замену реактивов в емкостях (батареях). Неполное удаление парафина или ксилола может значительно ухудшить результат иммуногистохимической реакции.

Допустимо использовать реагенты для депарафинизации, демаскировки и регидратации с pH 9, в таком случае депарафинизация проводится одновременно с демаскировкой и проводка по ксилолам и спиртам не требуется.

ВНИМАНИЕ! Образцы тканей для исследования не должны подвергаться высыханию на протяжении всего иммуногистохимического окрашивания. Окрашивание должно проводиться во влажной среде.

3.1.3 Приготовление рабочего раствора субстрат + хромоген

Компоненты набора реагентов «Набор реагентов Универсальная двухстадийная система детекции PrimeVision (антитела к IgG мыши/кролика - HRP/DAB) для проведения иммуногистохимических исследований» - Энхансер, Поли-HRP конъюгат и Раствор А: DAB субстрат - готовы к использованию; компонент Раствор Б - концентрат DAB хромогена – концентрированный раствор.

Для приготовления рабочего раствора субстрат + хромоген необходимо добавить 40 мкл Раствора Б к 1 мл Раствора А и хорошо перемешать. Рабочий раствор субстрат + хромоген хранится не более 5 дней.

На этом же этапе производится разбавление используемых буферных растворов до однократной концентрации, в случае если данные реагенты находятся в виде концентратов.

3.1.4 Демаскировка антигена.

Температурная демаскировка срезов проводится в достаточном объеме 1X трис-ЭДТА буфера, pH 9 или буфера на основе трис, pH 9 в емкости 10–40 минут при температуре 95-110°C. Рекомендованное время и температура демаскировки 20 мин при 95-98°C;

Примечание: оптимальное время инкубации должно определяться конечным пользователем, в зависимости от имеющегося оборудования. После окончания демаскировки контейнер с предметными стеклами необходимо охладить 20 мин или до 65°C в зависимости от используемого оборудования и программы. Остывшие стекла промываются несколько раз дистиллированной водой или буфером для промывок.

3.1.5 Срезы обводятся гидрофобным карандашом (во избежание растекания реагентов) и сразу же заливаются промывочным буфером.

3.1.6 При необходимости, на данном этапе проводится блокировка эндогенной пероксидазы и/или блокировка неспецифического связывания антител. Используйте предназначенные для этого реагенты в соответствии с инструкцией по применению.

3.2 Шаг 2. Инкубация с первичными антителами

3.2.1 На отдельные стёкла со срезами наносится по 100-140 мкл готовых к использованию антител.

3.2.2 Срезы помещаются во влажную камеру на 30 мин.

3.2.3 Срезы промываются промывочным буфером три раза по две минуты. Стекля со срезами необходимо промокнуть ребром о фильтрованную бумагу.

3.3 Шаг 3. Выявление реакции антиген-антитело.

3.3.1 Окрашивание срезов реагентами набора «Набор реагентов Универсальная двухстадийная система детекции PrimeVision (антитела к IgG мыши/кролика - HRP/DAB) для проведения иммуногистохимических исследований»:

3.3.1.1 На срезы наносится по 100-150 мкл реагента Энхансера. Срезы помещаются во влажную камеру на 15 минут.

3.3.1.2 Срезы промываются промывочным буфером два раза по пять минут, допустимо промывать 3 раза по 2 мин. Стекла со срезами необходимо промокнуть ребром о фильтрованную бумагу.

3.3.1.3 На срезы наносится по 100-150 мкл реагента Поли-HRP конъюгата. Срезы помещаются во влажную камеру на 30 минут.

3.3.1.4 Срезы промываются промывочным буфером два раза по пять минут, допустимо промывать четыре раза по две минуты. Стекла со срезами необходимо промокнуть ребром о фильтрованную бумагу.

3.3.1.5 На срезы наносится по 100-150 мкл рабочего раствора субстрат + хромоген в течение 8 минут.

3.3.1.6 Срезы промываются промывочным буфером, а затем дистиллированной водой два раза по две минуты.

3.4 Шаг 4. Заключительный этап

3.4.1 Для докраски ядер используют гематоксилин в соответствии с инструкцией производителя. Избыток гематоксилина удаляют дистиллированной водой. Для подсинивания ядер срезы промывают проточной водой или промывочным буфером, а после переносят в дистиллированную воду.

3.4.2 Срезы дегидратируют через серию изопропанола с повышающей концентрацией (например, 50%, 70%, 100%, 100%) по три минуты в каждом. Допустимо использовать другие реагенты, аналогичные спиртам.

3.4.3 Срезы осветляют в двух сменах ксилола (100%) по три минуты в каждом. Допустимо использовать другие реагенты, аналогичные ксилолу.

3.4.4 Срезы заключают под покровное стекло в среде для заключения препаратов в основе ксилола или другой аналогичной.

3.4.5 Заключение гистологических препаратов производится стандартным способом.

4 Интерпретация результатов окрашивания.

4.1 Интерпретация результатов окрашивания производится под микроскопом исключительно квалифицированным специалистом.

4.2 Критерии оценки окрашивания

Клетки тканей, содержащие определяемый первичными антителами антиген (белок PMS2), окрашиваются в месте локализации антигена с образованием преципитата коричневого цвета (или другого цвета в соответствии с выбранным хромогеном). Оценивается наличие или отсутствие ядерной окраски в опухолевых клетках.

Положительным ядерным окрашиванием, то есть присутствием ядерной окраски в опухолевых клетках образцов биоматериала считается однозначное ядерное окрашивание в клетках жизнеспособных опухолей в присутствии внутреннего

положительных контролей (ядерное окрашивание в лимфоцитах, фибробластах или здоровом эпителии толстой кишки вблизи опухоли)

Отрицательным ядерным окрашиванием, то есть отсутствием ядерного окрашивания в опухолевых клетках образцов биоматериала считается однозначная потеря ядерного окрашивания или фокальное слабое неоднозначное ядерное окрашивание в клетках жизнеспособных опухолей в присутствии внутренних положительных контролей.

При иммуногистохимическом окрашивании оценивается только ядерная реакция.

21. Информация об интерферирующих веществах или ограничениях, связанных с пробой, которые могут повлиять на результат исследования.

Ограничения, связанные с пробой, которые могут повлиять на результат исследования:

} неполное удаление парафина или ксилола (или аналога) в процессе иммуногистохимического анализа может значительно ухудшить результат иммуногистохимической реакции;

} высушивание образцов тканей в процессе иммуногистохимического окрашивания может значительно ухудшить результат иммуногистохимической реакции;

} любые изменения условий демаскировки или времени инкубации, могут исказить результаты окрашивания.

Согласно ГОСТ Р ИСО 18113-1: А.3.19 Интерферирующая величина, интерферент (interfering quantity, interferent): Величина, которая не является мезюрандом, но оказывает влияние на результат измерения.

Интерференция определяется как влияние вещества, способного изменять истинное значение аналита в биологическом материале пациента. Интерференция может быть вызвана наличием в пробе биоматериала как эндогенного, так и экзогенного происхождения. По классификации, предложенной Ward G. и соавторами, причины интерференции в иммунном анализе можно разделить на аналит-независимые и аналит-зависимые. В случае иммуногистохимии к аналит-независимым интерферентам теоретически можно отнести все вещества, участвующие в пробоподготовке, а именно формалин, спирты и парафин. Однако согласно методике проведения исследования (см. п. 21 Порядок выполнения тестирования) все это вещества элиминируются из образца при правильной подготовке и к моменту работы с изделием аналит-независимые интерференты в образце отсутствуют. Это также подтверждается литературными данными.

К основным эндогенным интерферирующим факторам относят следующие: метаболиты, образующиеся при патологических состояниях, таких как сахарный диабет; множественная миелома; холестатический гепатит; гемолиз, т.е. разрушение эритроцитов с выходом в жидкую часть крови ряда внутриклеточных компонентов (гемоглобина, ЛДГ,

калия, магния и др.), что изменяет истинные результаты определения концентрации/активности таких компонентов крови, как билирубин, липаза; липемия, которая изменяет результаты ряда колориметрических и нефелометрических методов исследования (особенно при исследовании фосфора, общего билирубина, мочевой кислоты, общего белка, электролитов).

Отличительной особенностью ИГХ метода является то, что материалом для исследования служит не кровь, а ткань, фиксированная в формалине и залитая в парафин. Некоторые литературные источники рассматривают эндогенную пероксидазу как потенциальные интерферент реакции. Она содержится в некоторых типах сильно васкуляризированной ткани и в эритроцитах. Однако в процессе пробоподготовки образцов (см. п. 21 Порядок выполнения тестирования) ткань подвергается температурной обработке в определенных условиях с последующей процедурой ингибирования эндогенной пероксидазы с помощью раствора для ингибированной пероксидазы (3% перекиси водорода). Это является неотъемлемой частью рутинной методики ИГХ. Таким образом, в моменту использования изделия все потенциальные аналит-зависимые интерференты также отсутствуют. Существуют литературные данные описывающие устойчивость иммунохимических методов в целом к воздействию интерферентов в случае высокой специфичности применяемых антител, что и наблюдаем в отношении данного изделия.

Список литературы:

1. Мошкин А.В. Обнаружение интерференции как составляющая валидации результатов лабораторного исследования. Лабораторная служба. 2018;7(4):3-4.
2. Ward G., Simpson A. et al. The investigation of interferences in immunoassay. Clinica Biochemistry 2017; 50: 1306–1311.
3. Caruso B, Bovo C, Guidi GC. Causes of preanalytical interferences on laboratory immunoassays – a critical review. The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 2020; 31 (1): 70-84.
4. Interference Testing in Clinical Chemistry, 3rd Edition — EP07 Paperback – 2018, NCCLS.
5. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition. NCCLS document EP9-A2 (ISBN 1-56238-472-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.
6. Analytical Interference More than Just a Laboratory Problem. Steven C. Kazmierczak PhD, and Paul G. Catrou, MD, 2000 Jan; 113 (1):9-11.

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.

22. Риски применения.

Изделие безопасно при использовании в соответствии с настоящей инструкцией по применению.

23. Информация об обстоятельствах, при которых потребитель должен проконсультироваться с медицинским работником.

При работе с изделием необходимо применять общие правила безопасности при работе с биоматериалом.

24. Информация для потребителей медицинского изделия о мерах предосторожности, предпринимаемых в отношении потенциально инфекционного материала.

Во избежание заражения парентеральными вирусными гепатитами, ВИЧ-инфекцией следует соблюдать правила работы с колющим и режущим инструментарием. Работа с биологическим материалом должна быть организована в соответствии с СанПиНом 3.3686-21.

В случае порезов и уколов немедленно обработать и снять перчатки, выдавить кровь из ранки, вымыть руки с мылом под проточной водой, обработать руки 70-процентным спиртом, смазать ранку 5-процентным раствором йода.

25. Информацию о первоначальном выпуске или последнем пересмотре эксплуатационной документации

Актуальная информация об утверждении настоящей инструкции указана на титульном листе.

26. Хранение и характеристики стабильности.

Хранение изделий в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при от +2 до +8°C, относительной влажности не выше 60% в условиях, исключающих действие агрессивных сред, прямых солнечных лучей и влаги. Замораживание изделий не допускается.

Характеристики стабильности изделия соответствуют следующим требованиям:

1. Изделие стабильно при хранении в заявленных условиях в упаковке производителя в течение 12 месяцев.
2. После вскрытия изделие стабильно при хранении в заявленных условиях в упаковке производителя в пределах срока годности.

27. Предупреждения и меры предосторожности, предпринимаемые при утилизации медицинского изделия.

Утилизацию или уничтожение изделия следует проводить в соответствии с СанПиНом 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и

питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Использованные компоненты изделий, имевшие контакт с биологическим материалом, перед уничтожением дезинфицируют и складывают в контейнеры или пакеты для сбора отходов класса Б и утилизируют в соответствии с требованием СанПиН 2.1.3684-21.

Упаковка наборов реагентов и пустые флаконы относятся к классу А по СанПиН 2.1.3684-21 и утилизируется как бытовые отходы

28. Порядок и условия утилизации или уничтожения медицинского изделия

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

Использованные компоненты изделий, имевшие контакт с биологическим материалом, перед уничтожением дезинфицируют и складывают в контейнеры или пакеты для сбора отходов класса Б и утилизируют в соответствии с требованием СанПиН 2.1.3684-21. Упаковку изделий утилизируют как отходы класса А в соответствии с требованием СанПиН 2.1.3684-21.

Следующие пункты не применимы к изделию:

- Информация о порядке установки, монтажа, настройки, калибровки и иных действиях, необходимых для ввода медицинского изделия в эксплуатацию.
- Информация для проверки правильности установки (монтажа) медицинского изделия и его готовности к безопасной работе эксплуатации.
- Прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам правильности – изделие не содержит калибраторов и контрольных материалов правильности.
- Информация о порядке обработки медицинского изделия для его повторного использования – изделие предназначено для одноразового применения. Повторное использование изделия не допускается.
- Информация, необходимая для идентификации медицинских изделий с целью получения безопасной комбинации – изделие не комбинируется с другими медицинскими изделиями и компонентами.
- Информация о мерах предосторожности, предпринимаемых в случае:
 - а) неисправности медицинского изделия, сбоя в его работе или отклонений в функционировании, которые могут влиять на безопасность медицинского изделия, в том числе определяемых по внешним признакам;
 - б) воздействия на функционирование медицинского изделия внешних факторов, связанных с применением медицинского изделия в комбинации с другими медицинскими изделиями и (или) оборудованием, или таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температура воздуха;
 - в) риска электромагнитных помех, создаваемых медицинским изделием для других медицинских изделий, оборудования – не применимо для изделия.
- Предупреждения и (или) меры предосторожности, предпринимаемые потребителем при применении медицинского изделия, содержащего лекарственное средство для медицинского применения, материал животного и (или) человеческого происхождения, материалы, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсibilизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.
- Информация о необходимой обработке медицинского изделия для целей его повторного применения по назначению, включая очистку, дезинфекцию, упаковку и при необходимости метод повторной стерилизации.

- Описание процедуры тестирования, включая расчеты и интерпретации результатов тестирования и, при необходимости, информацию о целесообразности проведения подтверждающих тестов.
- В отношении медицинского изделия, предназначенного для самотестирования потребителем – не предназначен для самотестирования.



Общество с ограниченной ответственностью
«ПраймБиоМед»
117246, г. Москва, Научный проезд, д.20, стр.3,
пом.1, комн. 7-9
ИНН/КПП 7714909926 / 772801001
ОГРН 1137746572358
тел. +7(495)-645-44-25
info@primebiomed.ru
www.primebiomed.ru

Приложение Б к инструкции по применению

Методические рекомендации по использованию медицинского изделия
«Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022»

ПРИМЕНЕНИЕ

Данное изделие предназначено для вспомогательной диагностики онкологических заболеваний. Реагент используется для *in vitro* качественного выявления белка PMS2 в клетках срезов нормальных и опухолевых тканей человека с помощью иммуногистохимических методов. Интерпретация результатов окрашивания должна выполняться только квалифицированным специалистом (врачом-патологоанатомом или врачом клинической диагностики).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Система репарации неспаренных оснований ДНК (MMR) — это молекулярный механизм, цель которого заключается в исправлении неправильных замен нуклеиновых оснований, спонтанно происходящих во время репликации ДНК1. Считается, что за дефекты в механизме MMR ответственны мутации в белках MMR, чаще всего в MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6.

Обычно белки PMS2 и MLH1 и взаимодействуют в гетеродимерном комплексе, как и белки MSH2 и MSH6. Если MMR функционирует нормально, гетеродимер MSH6/MSH2 связывается с неспаренным основанием ДНК. Это связывание обуславливает конформационное изменение, которое позволяет гетеродимеру MLH1/PMS2 связывать ДНК-связанный комплекс MSH6/MSH2, что приводит к удалению поврежденного участка ДНК. Мутации или дефицит этих белков приводят к MSI (микросателлитной нестабильности) и соматическим мутациям из-за ошибок репликации.

СОСТАВ ИЗДЕЛИЯ

Кроличьи моноклональные антитела к белку PMS2, клон PBM-02R: раствор иммуноглобулинов кролика IgG, в трис-буфере, pH 7.2-7.6, 1% бычий сывороточный альбумин, 0,05% ProClin 300, в качестве антибактериального компонента.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение белка PMS2 основано на принципе иммуногистохимического (ИГХ) анализа, применяемого в патологоанатомических лабораториях для диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований. Процедура иммуногистохимии основана на выявлении в анализируемом образце ткани белков, специфичных для того или иного вида клеток, что позволяет отличать один вид опухоли от другого, а также выявлять маркеры, отвечающие за лекарственную чувствительность опухолевой ткани и прогноз заболевания. Основой ИГХ-метода является иммунологическая реакция антиген - антитело. Антитела связываются с антигенами и позволяют обнаружить клетки тканей человека с экспрессией интересующего белка. Клетки тканей, содержащие определяемый антиген, окрашиваются в месте его локализации с образованием окрашенного преципитата. Локализация и структура окрашивания оцениваются с помощью светового микроскопа.

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Срезы (на стеклах) тканей человека, фиксированных в формалине и залитых в парафин (FFPE).

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С ИЗДЕЛИЕМ.

- Буфер для демаскировки антигена (трис-ЭДТА буфер, pH 9 или буфер на основе трис, pH 9);
- Ксилол;
- Изопропанол;
- Деионизованная или дистиллированная вода;
- Промывочный буфер с добавлением эмульгатора ТВИН 20;
- Разбавитель антител
- Система детекции;
- Покровные стекла;
- Гематоксилин;
- Среда для заключения препаратов;
- Фильтровальная бумага или бумажные полотенца;
- Емкости для окрашивания и промывки;
- Влажная камера;
- Гидрофобный карандаш;
- Таймер;
- Термостат;
- Водяная баня или иное оборудование для демаскировки антигена;
- Дозаторы автоматические переменного объема;

Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека
иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022

30670

Ред. 00

Стр. 1 из 2



ПраймБиоМед

Наука. Диагностика. Здоровье.

Общество с ограниченной ответственностью
«ПраймБиоМед»
117246, г. Москва, Научный проезд, д.20, стр.3,
пом.1, комн. 7-9
ИНН/КПП 7714909926 / 772801001
ОГРН 1137746572358
тел. +7(495)-645-44-25
info@primebiomed.ru
www.primebiomed.ru

- Световой микроскоп.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для in vitro диагностики, только для профессионального применения.

ProClin 300 - антибактериальный препарат. При контакте с кожей может вызвать аллергическую реакцию.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Любые изменения условий демаскировки или времени инкубации, могут исказить результаты окрашивания. Инкубация с антителами выполняется во влажной среде. При нанесении реагентов на срез вся его поверхность должна быть покрыта реагентом. Не допускайте высыхания срезов до завершения процедуры окрашивания. Все реагенты только для однократного использования.

РАЗВЕДЕНИЕ

10-310063-7: раствор антител, готовый к использованию.

10-310063-01, 10-310063-05, 10-310063-1: концентрированный раствор антител. Перед использованием разведите концентрированные антитела в пропорции 1:20 - 1:100, используя разбавитель антител. Оптимальное разведение может варьироваться в зависимости от исследуемого образца и используемой системы детекции, и должно определяться в каждом отдельном случае.

ДЕМАСКИРОВКА АНТИГЕНА

Температурная, трис-ЭДТА буфер, pH 9 или буфер на основе трис, pH 9.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ С СИСТЕМОЙ ДЕТЕКЦИИ PrimeVision

- 1.1. Сделайте проводку и демаскировку срезов тканей на предметных стеклах
- 1.2. Проведите блокировку эндогенной пероксидазы. Используйте предназначенный для этого реагент в соответствии с инструкцией по применению.
- 1.3. Инкубируйте срезы с первичными антителами (разведенными из концентрата 1:20 - 1:100 или готовыми к использованию) – 30 минут при комнатной температуре во влажной камере.
- 1.4. Промойте проточным буфером 3 раза по 2 минуты.
- 1.5. Инкубируйте срезы с системой детекции «Универсальная двухстадийная система детекции PrimeVision (антитела к IgG мыши/кролика - HRP/DAВ) для проведения иммуногистохимических исследований».
 - 1.5.1. Инкубируйте с Энхансером 15 минут.
 - 1.5.2. Промойте проточным буфером 3 раза по 2 минуты или 2 раза по 5 мин.
 - 1.5.3. Инкубируйте с Поли-HRP конъюгатом 30 минут.
- 1.6. Промойте проточным буфером 4 раза по 2 минуты или 2 раза по 5 мин.
- 1.7. Инкубируйте срезы с готовым DAB (на 1 мл Раствора А (субстрат) - 40 мкл Раствора Б (хромоген)) - 8 мин.
- 1.8. Промойте проточным буфером для закрепления DAB и дистиллированной водой.
- 1.9. Для визуализации ядер используйте гематоксилин 0,5-5 минут в соответствии с инструкцией производителя.
- 1.10. Промойте срезы в дистиллированной воде, в одной смене проточной воды или дифференцирующего реагента (10 сек) и снова в дистиллированной воде.
- 1.11. Выполните стандартную проводку и заключение препаратов под покровное стекло

ОКРАШИВАНИЕ

Ядерное.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ

Миндалины, ткани толстой кишки.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Только для использования в ручных методах окраски. При использовании в автоматических системах окраски оптимальный протокол подбирается индивидуально в каждой лаборатории. Предназначено для работы с тканями, фиксированными в формалине и залитыми в парафин (FFPE). При работе с замороженными срезами или клеточными препаратами оптимальный протокол подбирается индивидуально в каждой лаборатории.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Изделие должно храниться при температуре от 2 до 8°C. Замораживание не допускается. Транспортировку осуществлять всеми видами крытого транспорта при температуре 2-8°C. Дата изготовления и срок годности указаны на упаковке. Гарантия качества недействительна после истечения срока годности.

Внимание: при нарушении условий хранения и протокола проведения анализа рекламации не принимаются.

Полный текст инструкции по применению приведен на сайте: www.primebiomed.ru. По вопросам, касающимся качества изделия «Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R) по ТУ 21.20.23-012-17782202-2023» следует обращаться по адресу: 117246, г. Москва, Научный пр., 20, стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, тел. +7(495)6454425, e-mail: info@primebiomed.ru.

Реагент для выявления белка PMS2 (клон PBM-02R) в тканях человека иммуногистохимическими методами по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022

30670

Ред. 00

Стр. 2 из 2

ПЕРЕЧЕНЬ ДОКУМЕНТОВ,
ССЫЛКИ НА КОТОРЫЕ ДАНЫ
В ИНСТРУКЦИИ

ГОСТ 12.1.008-76	ССБТ. Биологическая безопасность. Общие требования
ГОСТ Р 52905-2007	Лаборатории медицинские. Требования безопасности
ГОСТ Р 53079.2-2008	Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Руководство по управлению качеством в клиничко-диагностической лаборатории. Типовая модель
ГОСТ ИСО 14698-1-2005	Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды. Контроль биозагрязнений. Часть 1. Общие принципы и методы
ГОСТ Р ИСО 15189-2015	Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности
СанПиН 2.1.3684-21	Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий
СанПиН 3.3686-21	Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней

Эскиз маркировки пробирок/флаконов

ПраймБиоМед Кат. 10-310063-01 Серия ГММXXXXX 0,1 мл
 Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека
 иммуногистохимическими методами (клон RBM-02R)
 по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 Концентрированный
 ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 РУ
 ООО "ПраймБиоМед". 117246, Москва,
 Научный пр., 20 стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, Тел: +7(495)645-4425


ПраймБиоМед Кат. 10-310063-1 Серия ГММXXXXX 1 мл
 Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека
 иммуногистохимическими методами (клон RBM-02R)
 по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 Концентрированный
 ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 РУ
 ООО "ПраймБиоМед". 117246, Москва,
 Научный пр., 20 стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, Тел: +7(495)645-4425

ПраймБиоМед Кат. 10-310063-05 Серия ГММXXXXX 0,5 мл
 Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека
 иммуногистохимическими методами (клон RBM-02R)
 по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 Концентрированный
 ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 РУ
 ООО "ПраймБиоМед". 117246, Москва,
 Научный пр., 20 стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, Тел: +7(495)645-4425


ПраймБиоМед Кат. 10-310063-7 Серия ГММXXXXX 7 мл
 Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека
 иммуногистохимическими методами (клон RBM-02R)
 по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 Готовый к использованию
 ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
 РУ
 ООО "ПраймБиоМед". 117246, Москва,
 Научный пр., 20 стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, Тел: +7(495)645-4425

1 м
их челове
PBM-02R)
8°C
IV
7
ях челове
PBM-02R)
8°C
IV
15-4425

ПраймБиоМед Кат. 10-310063-XX Серия ГММXXXXX XX мл
Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека
иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R)
по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
Концентрированный
ТУ 21.20.23-012-17782202-2022 ММ/ГГГГ 2°C 8°C
РУ
ООО "ПраймБиоМед". 117246, Москва,
Научный пр., 20 стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, Тел: +7(495)645-4425
IVD

ПраймБиоМед Кат. 10-310063-7 Серия ГММXXXXX 7 мл
Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека
иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R)
по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022
Готовый к использованию
ТУ 21.20.23-012-17782202-2022 ММ/ГГГГ 2°C 8°C
РУ
ООО "ПраймБиоМед". 117246, Москва,
Научный пр., 20 стр. 3, пом. 1, комн. 7-9, Тел: +7(495)645-4425
IVD

ПраймБиоМед

**Реагент для выявления белка PMS2 в тканях человека
иммуногистохимическими методами (клон PBM-02R)
по ТУ 21.20.23-012-17782202-2022**

Серия ГММXXXXX

ММ/ГГГГ

ММ/ГГГГ

2°C

8°C

Масса нетто
Масса брутто
Масса нетто потребительской упаковки изделий

**ООО "ПраймБиоМед". 117246, Москва, Научный пр., 20 стр. 3,
 пом. 1, комн. 7-9, Тел: +7(495)645-4425**

СИМВОЛЫ

	Использовать до		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии		Предел температуры
	Дата изготовления		Изготовитель
	Номер по каталогу		Содержимого достаточно для проведения п тестов
	Обратитесь к инструкции по применению		Биологический риск

	Запрет на повторное применение		Номер пациента
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		Не допускать воздействия солнечного света

Прошито, пронумеровано и скреплено
печатью 16 (шестнадцать) листов
Должность генеральный директор
г.г.гг
Подпись [подпись]
« 19 » декабря 20 15 года М.П.

