

**УТВЕРЖДЕНА**  
**Приказом Росздравнадзора**

От \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_



## **ИНСТРУКЦИЯ**

### **По применению Контрольного материала «Витамин Д» (Fujirebio Diagnostics vitamin D Control).**

Контрольные сыворотки трех уровней

#### **Назначение**

Только для диагностики in vitro.

Контрольные сыворотки Fujirebio Diagnostics Vitamin D Control – это протестированные контрольные сыворотки, предназначенные для проведения контроля качества лабораторных исследований при количественном определении витамина D.

#### **Введение и принцип метода**

Данные контрольные сыворотки могут быть использованы для контроля характеристик и правильности выполнения используемого метода лабораторной диагностики in-vitro. Контроль качества исследований является неотъемлемой частью правил хорошей лабораторной практики. Vitamin D Control включает контрольные сыворотки трех уровней, что позволяет сопоставлять результаты с ожидаемыми диапазонами, таким образом обеспечивать соответствующие характеристики анализа на всем клинически значимом диапазоне.

#### **Состав набора**

Уровень 1: 2 x 2 мл

Уровень 2: 2 x 2 мл

Уровень 3: 2 x 2 мл

Контрольные сыворотки Vitamin D Control изготовлены из человеческой сыворотки, с добавлением очищенных белков (бычьих), очищенных биохимических материалов и химических веществ. Содержит Проклин 300® / Гентамицин в качестве консервантов.

Данный контроль содержит 25(ОН) витамин D2 и 25(ОН) витамин D3; таким образом, данная комбинация представляет собой клинически значимые уровни общего витамина D (1). Контрольные материалы поставляются в лиофилизированном виде.

#### **Хранение и стабильность**

Не вскрытые: контрольные сыворотки Vitamin D Control стабильны при температуре 2–8°C до истечения срока годности, указанного на этикетке флаконов.

После растворения: все аналиты стабильны в течение 14 дней при хранении в тщательно закрытых флаконах при 2–8°C. Все аналиты стабильны в течение 60 дней при хранении при ≤ 10°C. Растворенные контроли могут быть заморожены/оттаяны до 9 раз. Не храните контрольные сыворотки при комнатной температуре.

#### **Приготовление реагентов**

Используя калиброванную пипетку внесите точно 2.0 мл дистиллированной или деионизированной воды в каждый флакон. Закройте флакон и оставьте при комнатной температуре 18–25°C не менее чем на 30 минут, периодически помешивая (5-6 раз), для полного растворения. Аккуратно переверните флаконы несколько раз (3 раза) перед использованием, для получения равномерного раствора.

## Процедура анализа

При тестировании контрольных материалов точно следуйте всем инструкциям, поставляемым производителями с наборами или анализаторами. Анализ контрольных сывороток должен выполняться точно так же как и анализ образцов. Следуйте принятым локальным правилам утилизации отходов. Контроль качества должен выполняться в соответствии с локальными, региональными и/или федеральными требованиями или другими требованиями официальных норм. В случае повреждения упаковки обращайтесь к вашему региональному дистрибьютору или к производителю, Fujirebio Diagnostics, контактная информация указана на последнем листе данной инструкции (см. инструкцию на английском языке).

## Меры предосторожности

Материалы человеческого происхождения. Обращайтесь как с потенциально инфекционно опасными материалами. Каждая донорская сыворотка, использованная для приготовления данных контрольных материалов, была протестирована методами, одобренными FDA, на содержание антител к HIV-1/2, HCV и Treponema Pallidum (сифилису) и содержание поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), и были получены отрицательные результаты. Данные материалы могут содержать какие-либо другие человеческие патогены, для выявления которых не существует утвержденных методов. Со всеми материалами человеческого происхождения необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасными препаратами.

- Никогда не пипетируйте ртом.
- Не допускайте перекрестной контаминации, убедитесь, что крышки и пробки флаконов не менялись во время использования.

## Ограничения

1. Не используйте набор после окончания срока годности.
2. Выбросьте содержимое флаконов, если видны признаки микробного заражения или раствор контроля мутный.
3. Не используйте контрольные материалы в качестве стандартов.

## Оценка значений

Допустимые диапазоны указанные в сертификате контроля качества, установлены только для перечисленных в сертификате методов. Допустимые диапазоны указанные в сертификате контроля качества, получены в результате многократного тестирования и специфичны по отношению к лоту. Указанные тестирования были выполнены производителем реагентов и/или в независимых лабораториях с помощью реагентов соответствующих производителей (доступных в момент выполнения тестирования) и с использованием контрольных материалов Vitamin D Control данного лота. Значения, получаемые в вашей лаборатории, должны попадать в указанный диапазон допустимых значений; однако результаты, получаемые в лаборатории с течением срока годности контролей, могут отличаться от указанных значений. Вариации между лабораториями и в течение времени могут быть вызваны различиями в технике выполнения анализа, инструментах и реагентах, или изменениями в методе, описанном производителем. Каждой лаборатории рекомендуется установить свой собственный диапазон допустимых значений и средние величины, а указанные диапазоны использовать только как ориентировочные. Для преобразования нг/мл в нмоль/л используйте коэффициент 2.496 (1).

## СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данные материалы представляют собой лиофилизированный продукт, изготовленный с очень строгим соблюдением стандартов контроля качества. С данным контролем необходимо обращаться (хранить и использовать) так, как указано в данной инструкции, для получения ожидаемых значений.

**«СОГЛАСОВАНО»**

Зав. Кафедрой клинической  
Лабораторной диагностики ГОУ ДПО  
«РМАПО Росздрава»

д.м.н., профессор Долгов В.В.

2011г

Всего прошито  
и пронумеровано

2 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

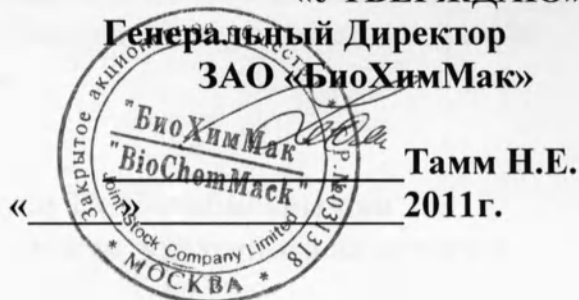
Тамм Н.Е.



УТВЕРЖДЕНА  
Приказом Росздравнадзора

От \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»



## ИНСТРУКЦИЯ

### *По применению Контрольного материала Опухолевые маркеры Tumor Marker Control*

Контрольные сыворотки низкого и высокого уровней

#### **Назначение**

Только для диагностики in vitro.

Контрольные сыворотки Fujirebio Diagnostics Tumor Marker Control (TMC) – это протестированные контрольные сыворотки, предназначенные для проведения контроля качества лабораторных исследований при количественном определении опухолевых маркеров AFP(альфафетопротеин), CA15-3, CA19-9, CA125, CEA (раковоэмбриональный антиген), ферритин, HE4, PSA (простата-специфичный антиген) и Free PSA (простата-специфичный антиген, свободная форма).

#### **Введение и принцип метода**

Данные контрольные сыворотки могут быть использованы для контроля характеристик и правильности выполнения используемого метода лабораторной диагностики in-vitro. Контроль качества исследований является неотъемлемой частью правил хорошей лабораторной практики. TMC включает контрольные сыворотки двух уровней, что позволяет сопоставлять результаты с ожидаемыми диапазонами, таким образом обеспечивать соответствующие характеристики анализа на всем клинически значимом диапазоне. Данные контрольные сыворотки содержат обе формы PSA: свободный PSA и связанный PSA-АСТ в клинически значимых пропорциях (1, 2).

#### **Состав набора**

- Уровень 1: 3 x 3 мл
- Уровень 2: 3 x 3 мл

Контрольные сыворотки ТМС изготовлены из человеческой сыворотки, с добавлением очищенных человеческих белков. Контрольные материалы поставляются в лиофилизированном виде.

### ***Хранение и стабильность***

Не вскрытые: контрольные сыворотки ТМС стабильны при температуре 2–8°C до истечения срока годности, указанного на этикетке флаконов.

После растворения: все аналиты стабильны в течение 14 дней при хранении в тщательно закрытых флаконах при 2–8°C, за исключением свободного PSA, который при указанных условиях стабилен в течение 7 дней. Все аналиты стабильны в течение 60 дней при хранении при  $\leq -20^\circ\text{C}$ . Растворенные контрли могут быть заморожены/оттаяны до 9 раз. Не храните контрольные сыворотки при комнатной температуре.

### ***Приготовление реагентов***

Используя калиброванную пипетку внесите точно 3.0 мл дистиллированной или деионизированной воды в каждый флакон. Закройте флакон и оставьте при комнатной температуре 18–25°C приблизительно на 15 минут, периодически помешивая, для полного растворения. Аккуратно переверните флаконы несколько раз перед использованием, для получения равномерного раствора.

### ***Процедура анализа***

При тестировании контрольных материалов точно следуйте всем инструкциям, поставляемым производителями с наборами или анализаторами. Анализ контрольных сывороток должен выполняться точно так же как и анализ образцов. Следуйте принятым локальным правилам утилизации отходов. Контроль качества должен выполняться в соответствии с локальными, региональными и/или федеральными требованиями или другими требованиями официальных норм. В случае повреждения упаковки обращайтесь к вашему региональному дистрибьютору или к производителю, Fujirebio Diagnostics, контактная информация указана на последнем листе данной инструкции (см. инструкцию на английском языке).

### ***Меры предосторожности***

Материалы человеческого происхождения. Обращайтесь как с потенциально инфекционно опасными материалами. Каждая донорская сыворотка, использованная для приготовления данных контрольных материалов, была протестирована методами, одобренными FDA, на содержание антител к HIV-1/2, HCV и Treponema Pallidum (сифилису) и содержание поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), и были получены отрицательные результаты. Данные материалы могут содержать какие-либо другие человеческие патогены, для выявления которых не существует утвержденных методов выявления. Со всеми материалами человеческого

происхождения необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасными препаратами.

Никогда не пипетируйте ртом.

Не допускайте перекрестной контаминации, убедитесь, что крышки и пробки флаконов не менялись во время использования.

### **Ограничения**

1. Не используйте набор после окончания срока годности.
2. Выбросьте содержимое флаконов, если видны признаки микробного заражения или раствор контроля мутный.
3. Не используйте контрольные материалы в качестве стандартов.

### **Оценка значений**

Допустимые диапазоны указанные в сертификате контроля качества, получены в результате многократного тестирования и специфичны по отношению к лоту. Указанные тестирования были выполнены производителем реагентов и/или в независимых лабораториях с помощью реагентов соответствующих производителей (доступных в момент выполнения тестирования) и с использованием ТМС данного лота. Значения, получаемые в вашей лаборатории должны попадать в указанный диапазон допустимых значений; однако результаты, получаемые в лаборатории с течение срока годности контролей, могут отличаться от указанных значений.

Вариации между лабораториями и в течение времени могут быть вызваны различиями в технике выполнения анализа, инструментах и реагентах, или изменениями в методе, описанном производителем. Каждой лаборатории рекомендуется установить свой собственный диапазон допустимых значений и средие величины, а указанные диапазоны использовать только как ориентировочные.

### **Типичные значения**

Значения, приведенные в таблице типичных значений на стр. 55 (см. инструкцию на английском языке), являются только примером типичных значений. Актуальные значения указаны в паспорте контрольных материалов, поставляемом с каждым набором, специфичном для каждого лота.

\*Значения были получены при выполнении тестирования на анализаторе Abbott ARCHITECT и AxSYM, за исключением HE4 (Fujirebio Diagnostics EIA).

\*\* Значения выше чем получаемые методом Abbott ARCHITECT.

## **СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Данные материалы представляют собой лиофилизированный продукт, изготовленный с очень строги соблюдением стандартов контроля качества. С

данным контролей необходимо обращаться (хранить и использовать) так, как указано в данной инструкции, для получения ожидаемых значений.

**«СОГЛАСОВАНО»**

**Зав. Кафедрой клинической  
Лабораторной диагностики  
ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»**



**Д.М.Н., профессор  
Долгов В.В.  
2011г.**



*В.В. Долгов*  
Специалист по  
МОСКВА  
работе ГОУ ДПО  
РМАПО Росздрава  
подпись *В.В. Долгов*

Всего прошито  
и пронумеровано

4 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.



**УТВЕРЖДЕНА**  
**Приказом Росздравнадзора**

От \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_

**«УТВЕРЖДАЮ»**  
**Генеральный Директор**  
**ЗАО «БиоХимМак»**

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_  
Тамм Н.Е.  
2011г.



## **ИНСТРУКЦИЯ**

### ***По применению набора для определения ЦИТОКЕРАТИН 19 (CYFRA 21-1)***

#### **Назначение**

Настоящий набор предназначен для количественного определения фрагментов цитокератина 19 в сыворотке человека.

#### **Введение и объяснение метода**

Цитокератин 19 относится к семье, состоящей, по крайней мере, из 20 различных цитокератинов. Цитокератины формируют структуру промежуточных филамент эпителиальных клеток. Цитокератиновые филаменты плохо растворимы, однако после протеолиза образуются растворимые фрагменты цитокератина, которые поступают в кровоток.

Данный набор CYFRA 21-1 предназначен для количественного определения фрагментов цитокератина 19 в сыворотке. Метод основан на двух моноклональных антителах (BM 19.21 и KS 19.1), специфичных для цитокератина 19. Повышение уровня фрагментов цитокератина 19 наблюдается у пациентов с раком легких, а так же при других типах рака, например рак мочевого пузыря. Определение уровня CYFRA 21-1 является одним из наиболее важных для мониторинга развития болезни при немелкоклеточном раке легких (NSCLC).

#### **Принцип метода**

Настоящий набор является твердофазным, неконкурентным методом, основанным на прямой «сэндвичевой» технологии. Стандарты, контроли и образцы пациентов инкубируются вместе с биотинилированными анти - CYFRA 21-1 моноклональными антителами и антителами, мечеными пероксидазой хрена, в покрытых стрептавидином ячейках микропланшета. После инкубации стрипы промываются. Далее в каждую ячейку добавляется буферный субстрат/хромогенный реагент (перекись водорода и 3,3',5,5'-тетраметилбензидин) и проходит ферментная реакция. В процессе реакции развивается голубая окраска, если присутствует антиген. Интенсивность окраски пропорциональна количеству CYFRA 21-1 в образце.

Интенсивность окраски измеряется на микропланшетном ридере при 620 нм (или возможно при 405 нм после добавления стоп-раствора). Стандартные кривые строятся для каждого анализа в координатах оптическая плотность против концентрации для каждого стандарта. Концентрация CYFRA 21-1 в образцах пациента рассчитывается по калибровочной кривой.

#### **Компоненты набора**

- Каждый набор содержит реагенты для 96 тестов.
- Срок годности набора проставлен снаружи коробки.
- Не используйте набор после истечения срока годности.
- Не смешивайте реагенты из различных лотов и наборов.

- Не смешивайте реагенты из различных лотов и наборов.
- Храните набор при 2-8°C.

Стабильность вскрытых реагентов указана в таблице ниже, при условии, что они не были контаминированы, хранились в тщательно закрытых оригинальных упаковках и хранятся и используются, как описано. Немедленно возвращайте реагенты в холодильник (2-8°C) после использования.

| Компонент    | Количество | Срок годности и хранение          |
|--------------|------------|-----------------------------------|
| Микропланшет | 1 планшет  | 2-8°C до истечения срока годности |

12x8 микроячеек, покрытых стрептавидином. После вскрытия немедленно верните неиспользованные стрипы в алюминиевый пакет с осушителем и тщательно запечатайте пакет, храните сухим.

Стандарт А CYFRA 21-1 1 флакон, 8 мл - 2-8°C до истечения срока годности

Готов для использования. Фосфатно – солевой буферный раствор, содержащий бычий сывороточный альбумин, инертный желтый краситель и 0.01% метилизотиазолонон (МИТ) в качестве консерванта. Контроль А также может быть использован для разведения образцов.

Стандарты В - F CYFRA 21-1

5 флаконов по 1 мл, лиофил.

После разведения стабильны

4 недели при 2-8 °C

4 месяца при -20 °C и ниже

Лиофилизированные стандарты (содержат антиген CYFRA21-1) в фосфатно – солевом буферном растворе, содержащем бычий сывороточный альбумин, инертный желтый краситель и не содержащий азида антиминокробный консервант. Перед использованием необходимо развести в дистиллированной или деионизированной воде. ЗАМЕЧАНИЕ: точные концентрации CYFRA21-1 указаны на этикетках каждого флакона.

Контроли CYFRA 21-1 2 флакона

После разведения стабильны

1 неделя при 2-8 °C

4 месяца при -20 °C и ниже

CYFRA21-1 контроль 1 1 мл

CYFRA21-1 контроль 2 1 мл

Лиофилизированные контроли (содержат CYFRA21-1) в сывороточном матриксе с не содержащим азида антиминокробный консервантом. Перед использованием необходимо развести в дистиллированной или деионизированной воде.

Биотинилированные анти - CYFRA 21-1

1 фл. 15 мл

2-8°C до истечения срока годности

Биотин анти - CYFRA 21-1 моноклональные мышинные антитела  $\approx 1.25$  мкг/мл. Tris-HCl солевой раствор буфера (pH 7.2) с бычьим сывороточным альбумином, блокирующими агентами,

детергентом, инертным голубым красителем и не содержащим азидов антимикробный консервантом. Перед использованием должны быть смешаны с трейсером.

Трейсер, HRP-меченые анти - CYFRA 21-1 антитела

1 фл. 0.75 мл

2-80С до истечения срока годности

Сток-раствор конъюгата пероксидазы хрена с анти - CYFRA 21-1 моноклональными мышиными антителами,  $\approx 42$  мкг/мл. Содержит несодержащий азидов антимикробный консервантом. Перед использованием должен быть смешан с биотинилированными анти - CYFRA 21-1.

Субстрат ТМБ 1 фл. 12 мл

2-80С до истечения срока годности

Готов для использования. Содержит забуференный раствор перекиси водорода и ТМБ.

Стоп-раствор 1 фл. 15 мл

2-80С до истечения срока годности

Готовая для использования 0.12 М соляная кислота.

Концентрат промывочного буфера

1 фл. 50 мл

2-80С до истечения  
срока годности

Содержит ТРИС-НСI солевой раствор с ТВИН 20 и Germall II в качестве консерванта. Должен быть разбавлен перед использованием в 25 раз дистиллированной или деионизированной водой.

### ***Признаки нестабильности***

Раствор субстрата ТМБ должен быть бесцветный или слегка голубоватый. Голубой цвет свидетельствует о загрязнении реагента и раствор должен быть выброшен.

### **Замечания и предостережения**

- Следуйте принятым инструкциям при утилизации всех отработанных материалов.
- Пожалуйста, ознакомьтесь с публикацией № (CDC) 88-8395 департамента Здоровья и Человеческих ресурсов США по лабораторной безопасности или местными или национальными инструкциями.
- Обращайтесь с пробами пациентов как потенциально инфекционно опасными.
- Избегайте контакта с реагентами, содержащими пероксидазу хрена и соляную кислоту. При попадании реагентов на кожу или в глаза тщательно промойте водой.

### **Внимание:**

Материалы человеческого происхождения, использованные при производстве реагентов данного набора, были протестированы с отрицательными результатами на антитела к HIV 1 и 2, антитела к HCV и поверхностному антигену гепатита В (HBsAg). Так как не существует метода, полностью гарантирующего отсутствия инфекционных заболеваний, передающихся с кровью, то со всеми материалами человеческого происхождения необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасными.

### **Сбор образцов**

Набор разработан для использования сыворотки. Соберите кровь из вены и отделите сыворотку, следуя общепринятым процедурам. Образцы могут храниться при 2-8 оС в течение 1 дня.

Для длительного времени храните образцы при -40 оС или ниже. Избегайте повторных циклов замораживания – оттаивания. Для аликвотирования выбирайте пробирки подходящего объема, тем самым ограничивая пустое пространство в пробирке. Замороженные образцы перед анализом необходимо довести до комнатной температуры и тщательно перемешать.

**ВАЖНО:** Перемешивание образцов необходимо ограничить 1 минутой и скоростью 16 об/мин. Встряхивание на вортексе должно быть не более 5 секунд. Образцы, содержащие крупные частицы, обходимо отцентрифугировать при 10000 об/мин в течение 10 минут.

#### **Требуемые материалы, не поставляемые с набором**

- Шейкер для микропланшет
- Встряхивание должно быть средним или энергичным, около 900 – 1100 колебаний/мин.
- Устройство для промывки плашек
- Автоматическое промывочное устройство с возможностью выполнять от 1 до 6 циклов промывки или полуавтоматическое устройство, соединенное с вакуумным или водоструйным насосом.
- Микропланшетный ридер
- Длина волны 620 нм и/или 405 нм и диапазоном абсорбции от 0 до 3.0.
- Полуавтоматические пипетки с одноразовыми пластиковыми наконечниками для раскапывания микрообъемов жидкостей. 8-канальная пипетка для раскапывания 100 мкл желательна, но не обязательна.
- Все необходимое оборудование может быть поставлено ЗАО БиоХимМак, Москва, тел. 939-2421.
- Дистиллированная или деионизированная вода для разведения стандартов, контролей и приготовления промывочных растворов.

#### **Замечания по протоколу анализа**

- Для получения хороших результатов важно хорошо понимать настоящую методику и точно следовать ей. Реагенты, поставляемые с набором, представляют собой единое целое.
- Не смешивайте идентичные реагенты из наборов, имеющих разные номера лотов.
- Не используйте реагенты набора после истечения срока годности, напечатанного на внешней стороне коробки.
- Перед использованием реагенты должны быть доведены до комнатной температуры (20-25оС). Для получения корректных результатов анализ следует проводить при температуре 20-28оС. Замороженные образцы после оттаивания должны быть осторожно, но тщательно перемешаны.
- Перед раскапыванием стандартов и образцов пациентов рекомендуется промаркировать стрипы для возможности их четкой идентификации в течение и после анализа.
- Необходима тщательная промывка стрипов. Убедитесь в том, что каждая ячейка заполняется полностью, что аспирация жидкости между циклами и в конце полная, и что ячейки сухие. (ЗАО «БиоХимМак» рекомендует объем не менее 400 мкл для автоматической промывки и не менее 350 мкл – для ручной промывки) Если осталась часть жидкости, переверните планшет на фильтровальную бумагу и легко постучите по нему.
- Автоматическая промывка: Следуйте инструкциям производителя прибора. Нельзя надолго оставлять промывающее устройство с промывочным раствором, так как иглы могут засориться, и это может быть причиной в дальнейшем неполной промывки.

4

Во время работы с субстратом ТМБ убедитесь в том, что вы используете чистые одноразовые пластиковые наконечники. Если субстрат ТМБ переносится из своего флакона, используйте только тщательно вымытый сосуд или предпочтителен одноразовый пластиковый флакон для предотвращения загрязнения реагентов.

Субстрат ТМБ должен быть бесцветным или слабо голубоватым. Голубая окраска свидетельствует о том, что реагент загрязнён и его следует выбросить.

Правильно используйте пипетки с наконечниками во время раскапывания образцов и реагентов. Избегайте прикосновения к стрипу или поверхности жидкости и переноса реагента из лунки в лунку. Это особенно важно при работе с субстратом ТМБ.

### Приготовление реагентов Их стабильность

Стандарты CYFRA 21-1                      4 недели при 2-8°C  
4 месяца при -20°C или ниже

Добавьте 1 мл дистиллированной воды в каждую пробирку. Позвольте постоять 15 минут для растворения и тщательно перемешайте. ЗАМЕЧАНИЕ: концентрация стандартов указана на этикетках флаконов и должны быть использована для расчета результатов. Перемешивание стандартов на вортексе не должно превышать 5 секунд.

Контроли CYFRA 21-1                      4 недели при 2-8°C  
4 месяца при -20°C или ниже

Добавьте 1 мл дистиллированной воды в каждую пробирку. Позвольте постоять 15 минут для растворения и тщательно перемешайте. ЗАМЕЧАНИЕ: диапазон контролей указан на этикетках флаконов и должен быть использован для расчета результатов. Перемешивание контролей на вортексе не должно превышать 5 секунд.

Промывочный раствор                      2 недели при 2-25°C  
в герметичном контейнере

Налейте 50 мл промывочного концентрата в чистый сосуд и разбавьте в 25 раз добавлением 1200 мл дистиллированной или деионизированной воды для получения забуференного промывочного раствора.

Раствор антител                              1 день при 2-8°C

Приготовьте нужный объем раствора антител смешением 50 мкл раствора Трейсера (меченых с ферментом антител) с 1 мл раствора Биотинилированных антител на стрип (см. нижеприведенную таблицу и протокол).

| Кол-во<br>стрипо<br>в | Раствор<br>трейсера<br>(мкл) | Биотинилированные<br>анти-CYFRA 21-1<br>(мл) |
|-----------------------|------------------------------|----------------------------------------------|
| 1                     | 50                           | 1                                            |
| 2                     | 100                          | 2                                            |
| 3                     | 150                          | 3                                            |
| 4                     | 200                          | 4                                            |
| 5                     | 250                          | 5                                            |
| 6                     | 300                          | 6                                            |
| 7                     | 350                          | 7                                            |
| 8                     | 400                          | 8                                            |

|    |     |    |
|----|-----|----|
| 9  | 450 | 9  |
| 10 | 500 | 10 |
| 11 | 550 | 11 |
| 12 | 600 | 12 |

Удостоверьтесь, что используются только чистые пластиковые или стеклянные сосуды для приготовления рабочего раствора антител.

### Процедура анализа

Все стандарты, контроли и образцы должны анализироваться в дублях. Калибровочная кривая должна строиться при каждой постановке анализа. Перед использованием реагенты должны быть доведены до комнатной температуры (20-25°C).

1. Приготовьте растворы стандартов, контролей, антител и промывочных буферов. Очень важно использовать чистые емкости. Строго следуйте инструкции.
2. Закрепите требуемое количество микрострипов в держателе. Поместите неиспользуемые стрипы в пластиковый пакет с осушителем и закройте его. Промойте каждый стрип один раз промывочным раствором. Не промывайте больше стрипов, чем собираетесь использовать в течение 30 минут.
3. Добавьте 25 мкл стандартов (А - F), контролей (1 и 2) и проб пациентов в ячейки согласно следующей схеме:

|   | 1     | 2          | 3      | 4 | 5 и<br>т.д. |
|---|-------|------------|--------|---|-------------|
| А | ст. А | ст. Е      | обр. 1 |   |             |
| В | ст. А | ст. Е      | обр. 1 |   |             |
| С | ст. В | ст. F      | обр. 2 |   |             |
| D | ст. В | ст. F      | обр. 2 |   |             |
| Е | ст. С | конт.<br>1 |        |   |             |
| F | ст. С | конт.<br>1 |        |   |             |
| G | ст. D | конт.<br>2 |        |   |             |
| Н | ст. D | конт.<br>2 |        |   |             |

4. Добавьте 100 мкл Раствора антител в каждую ячейку, используя одно- или восьмиканальную пипетку на 100 мкл. Избегайте прикосновения наконечников к стрипу или поверхности жидкости.
5. Инкубируйте держатель со стрипами 1 час (+ 5 минут) при комнатной температуре (20-25°C) с постоянным перемешиванием планшета на шейкере для микропланшет.
6. После инкубации удалите жидкость и промойте каждый стрип 6 раз.
7. Добавьте 100 мкл субстрата ТМБ в каждую ячейку, в той же последовательности, как в п. 4. Раствор субстрата следует добавлять по возможности быстро, чтобы время между добавлением в первую и последнюю ячейку не превышало 5 минут.
8. Инкубируйте 30 минут (+ 5 минут) при комнатной температуре с постоянным перемешиванием планшета на шейкере. Избегайте попадания прямого солнечного света.
9. Немедленно считайте оптическую плотность на ридере при 620 нм.

### Альтернативный вариант

Если в лаборатории нет ридера с фильтром на 620 нм, оптическая плотность может быть определена как описано в шаге 9а.

- 9а. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую ячейку и перемешайте. После этого в течение 15 минут считайте оптическую плотность при 405 нм.

### Диапазон измерений

Диапазон измерений для данного набора составляет от 0,5 до 50 нг/мл. Если концентрации превышают этот диапазон, рекомендуется разбавить образец стандартом А.

### Контроль качества

Для контроля достоверности анализа используют Контроль 1 и Контроль 2. Допустимый диапазон указан на флаконе каждого контроля.

Результаты считаются валидными в случае:

- Значения для контролей, проанализированных в дублях, укладываются в указанный диапазон.
- CV для контролей и стандартов В - F, проанализированных в дублях, не превышает 15%.
- Значение оптической плотности стандарта А, проанализированного в дублях, не превышает 0,06 ед.

Если контрольные результаты не укладываются в указанный диапазон, тщательно проверьте все реагенты и фотометр и повторите анализ. Каждая лаборатория может приготовить свои собственные пулы сывороток различных уровней, которые можно использовать в качестве внутренних контрольных сывороток.

### Референсный материал

Так как не существует международного референсного стандарта для антигена CYFRA 21-1, значения калибраторов данного набора CYFRA 21-1 были установлены по набору внутренних стандартов производителя.

### Расчет результатов

- Если используется ридер со встроенной программой обработки данных, по инструкции к ридеру создайте программу, используя концентрацию каждого стандарта CYFRA 21-1, помеченной на флаконах.
- Для автоматического расчета результатов рекомендуется использовать следующие методы:
- Метод аппроксимации кубическим сплайном. Стандарт А (0 мкг/л) должен быть включен в калибровочную кривую со значением 0 мкг/л.
- Метод аппроксимации гладким сплайном. Стандарт А (0 мкг/л) должен быть использован как бланк.
- Интерполяция от точки к точке. Стандарт А должен быть включен в калибровочную кривую со значением 0 мкг/л.
- Квадратичная регрессия. Стандарт А должен быть включен в калибровочную кривую со значением 0 мкг/л.

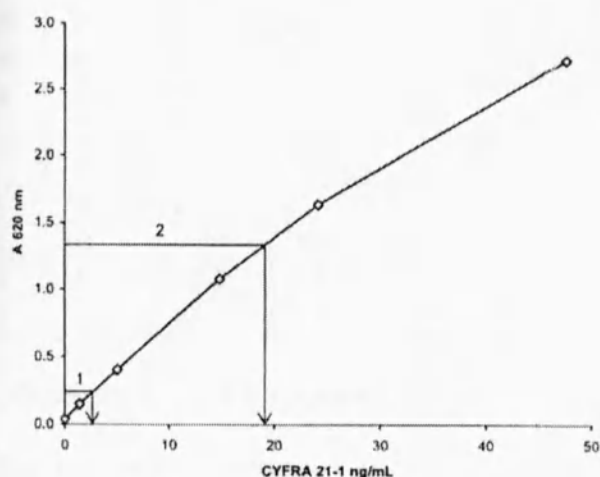
**Замечание:** 4-параметрическая или линейная регрессия не должны использоваться в этом методе. Для ручных расчетов стандартная кривая строится откладыванием значений оптической плотности (А), полученных для каждого стандарта CYFRA 21-1 против соответствующих концентраций CYFRA 21-1 (в нг/мл) (см. рисунок ниже). Значения концентраций CYFRA 21-1 в образцах для каждого пациента находятся из калибровочной кривой.

Пример (не используйте эту кривую для определения результатов)

| Образец       | Значения<br>Стандарт<br>ов (нг/мл) | Значения<br>поглотени<br>я (А) | CYFRA<br>21-1<br>нг/мл |
|---------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| Стандарт<br>А | 0                                  | 0.041                          |                        |
| Стандарт<br>В | 1.4                                | 0.151                          |                        |

7

|            |      |       |      |
|------------|------|-------|------|
| Стандарт С | 5.0  | 0.405 |      |
| Стандарт D | 14.8 | 1.080 |      |
| Стандарт E | 24.1 | 1.635 |      |
| Стандарт F | 47.6 | 2.721 |      |
| Образец 1  |      |       | 2.9  |
| Образец 2  |      |       | 19.4 |



### **Расчет результатов с разбавлением образцов**

Если образец дает значение CYFRA 21-1 превышающее диапазон измерений, необходимо разбавить его в соотношении 1/2 стандартом А.

1 : 2 разбавление = 100 мкл образца + 100 мкл стандарта А

Результаты затем вычисляются следующим образом:

Разбавление 1/2: 2 x измеренное значение

### **Ограничения метода**

Уровни CYFRA 21-1 не могут быть использованы как абсолютное доказательство присутствия или отсутствия злокачественных опухолей, а набор CYFRA 21-1 не должен использоваться для скрининга онкологических больных. Повышение уровня CYFRA 21-1 также наблюдается при туберкулезе, заболеваниях печени, пневмонии и почечной недостаточности. Результаты тестирования должны интерпретироваться только в связи с другими исследованиями и методами диагностики заболеваний и CYFRA 21-1 тест не должен замещать другие клинические исследования. Антитела к реагентам (человеческие анти-мышинные антитела (НАМА) или гетерофильные антитела) в образцах сывороток пациентов могут иногда влиять на результаты тестирования, несмотря на то, что в буфер добавлены специфические блокирующие агенты.

### **Ожидаемые значения**

Были выбраны 497 доноров крови. Значение оказалось равным 0.7 нг/мл, а медиана – 0.6 нг/мл.

95% доноров имели значения ниже 1.6 нг/мл. Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон нормальных значений с учетом локальных факторов окружающей среды, таких, как питание, климат, условия жизни, отбор пациентов и т.д.

### Характеристики анализа

#### *Точность измерения*

Точность определялась согласно рекомендациям NCCLS EP5-A2 используя 4 различные замороженные сыворотки, содержащие добавленный CYFRA 21-1. Каждый образец был случайным образом отобран и проанализирован в дублях дважды в день в течение 20 дней.

| Образец | Повторы | Значение (нг/мл) | Внутрисерийный SD, нг/мл | Внутрисерийный CV, % | Межсерийный SD, нг/мл | Межсерийный CV, % |
|---------|---------|------------------|--------------------------|----------------------|-----------------------|-------------------|
| 1       | 80      | 2.7              | 0.1                      | 2.4                  | 0.1                   | 3.9               |
| 2       | 80      | 7.2              | 0.1                      | 1.7                  | 0.2                   | 3.2               |
| 3       | 80      | 17.7             | 0.5                      | 2.6                  | 0.5                   | 3.1               |
| 4       | 80      | 35.7             | 1.0                      | 2.7                  | 1.1                   | 3.0               |

Общая точность измерений составила  $\leq 6\%$  CV.

#### *Предел обнаружения*

Предел обнаружения (ПО) для данного метода составил  $\leq 0,5$  нг/мл и был посчитан согласно рекомендациям NCCLS EP17-A. Были протестированы стандарт А и 4 образца, разведенных до 0.2 нг/мл, 4 раза в 24 повторах на каждый ран в 2 различных дня.

$$\text{ПО (нг/мл)} = 0.2 \text{ нг/мл} \times (1.65 \times \text{SD}_{0.2} + 1/65 \text{ SD}_{0.2}) / (\text{OD}_{0.2} - \text{OD}_0)$$

ПО для данного набора  $< 0.1$  нг/мл

### Чувствительность

Чувствительность данного метода составляет  $\leq 0.5$  нг/мл.

Чувствительность выражается как концентрация аналита с коэффициентом вариации 20%. Для определения чувствительности использовали рекомендации NCCLS EP5-A2. Были проанализированы 6 панелей в 20 различных дней по 2 рана в дублях используя реагенты из 2-х различных лотов.

Чувствительность данного набора составила  $\leq 0.2$  нг/мл.

#### *Извлечение*

% извлечения составил  $100 \pm 20\%$ .

Для анализа использовали разведения раствора антигена с добавлением образцов человеческой сыворотки с известными концентрациями CYFRA 21-1.

Данные приведены в таблице\*:

| Обр | Внутрен | Добавлен | Наблюдаем | Извлече |
|-----|---------|----------|-----------|---------|
|-----|---------|----------|-----------|---------|

| образец | внутреннее содержание CYFRA 21-1, нг/мл | наблюдаемая концентрация CYFRA 21-1, нг/мл | добавленная концентрация CYFRA 21-1, нг/мл | процент извлечения**, % |
|---------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------|
| 1       | 0.5                                     | 2                                          | 2.3                                        | 93                      |
|         |                                         | 5                                          | 5.4                                        | 100                     |
|         |                                         | 16                                         | 15.4                                       | 91                      |
|         |                                         | 38                                         | 39.9                                       | 103                     |
| 2       | 0.5                                     | 2                                          | 2.5                                        | 99                      |
|         |                                         | 5                                          | 5.2                                        | 96                      |
|         |                                         | 16                                         | 16.4                                       | 97                      |
|         |                                         | 38                                         | 39.6                                       | 102                     |
| 3       | 0.5                                     | 2                                          | 2.6                                        | 102                     |
|         |                                         | 5                                          | 5.4                                        | 99                      |
|         |                                         | 16                                         | 16.1                                       | 95                      |
|         |                                         | 38                                         | 42.0                                       | 108                     |
| 4       | 0.5                                     | 2                                          | 2.4                                        | 95                      |
|         |                                         | 5                                          | 5.3                                        | 98                      |
|         |                                         | 16                                         | 17.6                                       | 104                     |
|         |                                         | 38                                         | 43.1                                       | 111                     |
| 5       | 0.5                                     | 2                                          | 2.4                                        | 96                      |
|         |                                         | 5                                          | 5.4                                        | 100                     |
|         |                                         | 16                                         | 17.1                                       | 101                     |
|         |                                         | 38                                         | 39.2                                       | 101                     |

\* Для каждой лаборатории данные могут быть различными

\*\* % извлечения = наблюдаемая концентрация CYFRA 21-1 (нг/мл)/внутреннее содержание CYFRA 21-1 (нг/мл) + добавленная концентрация CYFRA 21-1 (нг/мл).

### Хук-эффект

Хук-эффект не наблюдается для образцов с концентрациями до 1100 нг/мл.

### Линейность разведений

Линейность разведений составила 100±20%.

Эксперимент проводили согласно рекомендациям NCCLS EP6-A. Образцы сывороток с высокими значениями CYFRA 21-1 были разведены стандартом А (нулевой). Для каждого разведения были рассчитаны значения концентраций и процент извлечения. Данные приведены в таблице\*:

| Образец | Конечный фактор разведения | Полученное значение (нг/мл) | Ожидаемое значение (нг/мл) | Процент извлечения** (%) |
|---------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| А       | Без развед.                | 43.9                        | 43.9                       | 100                      |
|         | 1:1.25                     | 34.8                        | 35.1                       | 99                       |
|         | 1:1.7                      | 26.0                        | 26.3                       | 99                       |
|         | 1:2                        | 21.5                        | 21.9                       | 98                       |
|         | 1:2.5                      | 17.1                        | 17.5                       | 97                       |
|         | 1:10                       | 9.0                         | 8.8                        | 102                      |
|         | 1:20                       | 4.3                         | 4.4                        | 99                       |
|         | 1:1.25                     | 2.2                         | 2.2                        | 102                      |
| В       | Без развед.                | 36.9                        | 36.9                       | 100                      |

|   |             |      |      |     |
|---|-------------|------|------|-----|
|   | 1:1.25      | 28.6 | 29.5 | 97  |
|   | 1:1.7       | 21.1 | 22.1 | 96  |
|   | 1:2         | 18.3 | 18.4 | 99  |
|   | 1:2.5       | 14.5 | 14.8 | 98  |
|   | 1:10        | 6.9  | 7.4  | 93  |
|   | 1:20        | 3.2  | 3.7  | 86  |
|   | 1:1.25      | 1.5  | 1.8  | 81  |
| C | Без развед. | 43.2 | 43.2 | 100 |
|   | 1:1.25      | 34.1 | 34.6 | 99  |
|   | 1:1.7       | 25.4 | 25.9 | 98  |
|   | 1:2         | 21.0 | 21.6 | 97  |
|   | 1:2.5       | 16.5 | 17.3 | 96  |
|   | 1:10        | 7.8  | 8.6  | 91  |
|   | 1:20        | 3.8  | 4.3  | 87  |
| D | 1:1.25      | 1.8  | 2.2  | 83  |
|   | Без развед. | 43.7 | 43.7 | 100 |
|   | 1:1.25      | 33.1 | 35.0 | 95  |
|   | 1:1.7       | 25.9 | 26.2 | 99  |
|   | 1:2         | 21.4 | 21.9 | 98  |
|   | 1:2.5       | 16.6 | 17.5 | 95  |
|   | 1:10        | 7.9  | 8.7  | 90  |
| E | 1:20        | 3.8  | 4.4  | 86  |
|   | 1:1.25      | 1.8  | 2.2  | 80  |
|   | Без развед. | 39.6 | 39.6 | 100 |
|   | 1:1.25      | 30.6 | 31.7 | 97  |
|   | 1:1.7       | 23.6 | 23.8 | 99  |
|   | 1:2         | 19.7 | 19.8 | 100 |
|   | 1:2.5       | 15.2 | 15.8 | 96  |
|   | 1:10        | 7.3  | 7.9  | 92  |
|   | 1:20        | 3.5  | 4.0  | 88  |
|   | 1:1.25      | 1.6  | 2.0  | 82  |

Среднее извлечение для пяти разведений оказалось равным 94%.

\* Для каждой лаборатории данные могут быть различными

\*\* % извлечения = наблюдаемая концентрация CYFRA 21-1 x фактор разведения/концентрация CYFRA 21-1 без разведения

### Специфичность

Специфичность составила 100±15%.

Возможные источники интерференции были определены согласно рекомендации NCCLS EP7-A. Были проверены следующие вещества и не найдена интерференция с ними:

| Эндогенные вещества сыворотки  | Концентрация |
|--------------------------------|--------------|
| Триглицериды                   | 30 мг/мл     |
| Билирубин                      | 0.2 мг/мл    |
| Гемоглобин                     | 5 мг/мл      |
| Общий белок                    | 120 мг/мл    |
| Химиотерапевтические лекарства | Концентрация |

|              |             |
|--------------|-------------|
| Карбоплатин  | 500 мкг/мл  |
| Цисплатин    | 165 мкг/мл  |
| Дексаметазон | 10 мкг/мл   |
| Доксорубин   | 1.16 мкг/мл |
| Лейковорин   | 2.68 мкг/мл |
| Метотрексат  | 45 мкг/мл   |
| Паклитаксел  | 3.5 мкг/мл  |

### **Потенциально мешающие клинические условия**

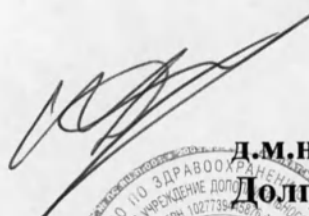
6 образцов, положительных по НАМА и 5 образцов, положительных по ревматоидному фактору (RF) были проанализированы на % извлечения с CYFRA 21-1 антигеном, добавленным в каждый образец в концентрациях приблизительно 5 нг/мл и 25 нг/мл. Результаты представлены в таблице\*:

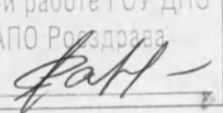
| Клиническое условие | Кол-во образцов | Процент извлечения |
|---------------------|-----------------|--------------------|
| НАМА                | 6               | 98                 |
| RF                  | 5               | 101                |

\* Для каждой лаборатории данные могут быть различными

**«СОГЛАСОВАНО»**

**Зав. Кафедрой клинической  
Лабораторной диагностики  
ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»**

  
д.м.н., профессор  
**Долгов В.В.** 2011г.

  
«Росси́я»  
Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию  
Удостоверение: специалист по  
кадровой работе ГОУ ДПО  
РМАПО Росздрава  
подпись: 

Всего прошито

и пронумеровано

12 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.

