

"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"



В.Ю.Борисов

30.06.2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для количественного определения антигена СА - 125 в сыворотке крови человека» "ИФА-СА-125"

Регистрационное удостоверение №РЗН 2018/7659 от 02.10.2018 г

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения антигена СА - 125 в сыворотке крови человека» "ИФА-СА-125" предназначен для количественного определения антигена СА-125 в сыворотке крови человека с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для обследования больных для уточняющей диагностики рака яичников и последующего мониторинга лечения.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Онкомаркер СА-125 является поверхностным антигеном, ассоциированным с эпителиальным раком яичников, представляет собой гликопротеин (М.м > 200 кДа). Определение СА-125 рекомендовано Международным противораковым союзом (VICC) для уточняющей диагностики рака яичников и последующего мониторинга лечения. Основным источником маркера является эндометрий, что объясняет циклическое изменение его уровня в зависимости от фазы менструального цикла (исследование СА-125 производится только в первую фазу). Повышенный уровень СА-125 наблюдают у 1% клинически здоровых женщин, у 3% женщин с доброкачественными заболеваниями яичников. На сегодняшний день СА-125 - наиболее чувствительный маркер остаточного эпителиального рака яичников.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуно-сорбент	разборный 96-луночный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном, в лунках стрипов которого сорбированы моноклональные антитела к СА-125	12 стрипов
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)	
Калибровочные пробы (КП 1-6)	содержащие известную концентрацию СА-125 (ориентировочные значения концентрации СА-125 в КП 1— 0 Ед /мл, в КП 2—15 Ед /мл; в КП 3— 50 Ед /мл; в КП 4— 100 Ед /мл; в КП 5 —	№ 1 — 4,0 мл в 1 фл. № 2 — 0,75 мл в 1 фл. № 3 - 0,75 мл в 1 фл. № 4 - 0,75 мл в 1 фл.

	200 Ед /мл; в КП 6– 400 Ед /мл; точные значения концентраций указываются на этикетках флаконов для каждой серии набора); прозрачная жидкость желтоватого цвета	№ 5 - 0,75 мл в 1 фл. № 6 - 0,75 мл в 1 фл.
Контрольный положительный образец (К ⁺)	жидкая сыворотка крови человека, содержащая СА-125 в известном диапазоне концентраций (указывается на этикетке флакона для каждой серии набора); опалесцирующая жидкость желтого цвета	0,75 мл в 1 фл.
Конъюгат	антитела к СА-125, меченные пероксидазой хрена; опалесцирующая жидкость красного цвета	17 мл в 1 фл.
40-кратный концентрат отмывающего буферного раствора [ОБР(х40)]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	25 мл в 1 фл.
Раствор индикаторный (РИ)	субстратный раствор, содержащий тетраметилбензидин и перекись водорода; прозрачная бесцветная жидкость	15 мл в 1 фл.
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	15 мл в 1 фл.
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.

Примечания. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

Калибровочные пробы (КП 1-6) аттестованы относительно СОП СА-125 (стандартный образец предприятия) в соответствии с ГОСТ ISO 17511-2011.

В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор дополнительно укомплектован:

- вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),
- клейкой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению, бланк калибровочного графика.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации позволяет одномоментное дублированное исследование 48 образцов, включая калибровочные и контрольные (на каждый образец используется 2 лунки, при этом на калибровочные и контрольные образцы используется 14 лунок). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	2	4	6	8	10	12
Число иссл. обр.	1	2-9	10-17	18-25	26-33	34-41

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Используется «сэндвич» вариант ИФА с двумя видами моноклональных антител, полученных к разным эпитопам СА-125. Моноклональные антитела к одному из эпитопов антигена нанесены на поверхность лунок иммуносорбента, антитела к другому эпитопу связаны с ферментом (пероксидазой) и входят в состав конъюгата. При внесении в лунки иммуносорбента исследуемого образца сыворотки и конъюгата происходит образование комплекса /антитело иммуносорбента/-/ СА-125 /-антитело конъюгата/. Его наличие выявляется по цветной реакции с ТМБ, интенсивность окрашивания реакционной смеси пропорциональна концентрации СА-125 в образце.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность. Минимальная определяемая концентрация СА-125 - не более 1,5 Ед /мл.

Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения содержания СА -125 в одном и том же образце сыворотки крови не более 8 %.

Линейность. Линейность определения в диапазоне концентраций 15 – 400Ед/мл. составляет 90 – 100%.

Точность (процент открытия) составляет 90-110%

"Hook-эффект" (обратно пропорциональная зависимость ОП от концентрации аналита, возникающая при высоких его концентрациях) не наблюдается до концентрации СА-125 20 000Ед /мл.

Специфичность: Перекрестные реакции с раковыми антигенами СА 15-3, СА 19-9, РЭА, АФП не выявлены.

Коэффициент регрессии:

для серии 01 от 09.2017 г. составил 0,9947.

для серии 02 от 10.2017г. составил 0,9932.

Коэффициент корреляции:

Серия 01: 0,9774.

Серия 02: 0,9966.

Коэффициент вариации - 8,0%.

Воспроизводимость результатов - 100%.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови человека объемом не менее 100 мкл.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Образцы до исследования можно хранить не более 3 суток при температуре от 2 до 8 °С и 3 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать. Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом центрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой. Концентрат отмывающего буферного раствора [ОБР(х40)] содержит мертиолят в конечной концентрации 0,02%. Данная концентрация является безопасной.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными. Класс А – эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам (ТБО).

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Достоверность результатов анализа зависит от строгого соблюдения следующих правил:

При работе с набором реагентов необходимо соблюдение основных требований GLP (надлежащей лабораторной практики), в том числе:

- отбирать только необходимое количество реагента,
- плотно закрывать флаконы их собственными крышками немедленно после отбора реагентов,
- запрещается возвращать остаток реагента из ванночек во флаконы,
- после завершения работы с набором сразу возвращать исходные реагенты в стандартные условия хранения (2-8⁰С),
- для каждого отдельного исследования необходимо построение собственной калибровочной кривой.

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одноканальные на 50 мкл и 100 мкл и многоканальные на 100 мкл) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или многоканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Цилиндры мерные на 50 мл, 500 мл, 1000 мл.

Термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 400-800 об/мин и температуре 37±1 °С.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин.

Холодильник бытовой.

Фильтровальная бумага.

ИФА-анализатор.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Приготовление рабочего отмывающего раствора

При выпадении осадка солей в ОБР(х40) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При постановке на полном планшете с использованием ИФА-анализаторов 25 мл ОБР(х40) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной "ручной" постановке использовать соотношения объемов ОБР(х40) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ОБР(х40), мл	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	25
Вода очищенная, мл	до 160	до 240	до 320	до 400	до 480	до 560	до 640	до 720	до 800	до 880	до 1000

Готовый рабочий отмывающий раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 30 суток, при комнатной температуре – не более 15 суток.

Примечание: Все реагенты, кроме отмывающего раствора, готовы к применению.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С (пакет с иммуносорбентом выдерживать при указанной температуре до вскрытия!). Жидкие реагенты тщательно перемешать. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Исследуемые образцы, в которых ранее была определена концентрация СА-125 более 400 Ед/мл, предварительно развести в КП₁ (концентрация СА-125 должна попадать в диапазон от 15 Ед/мл до 400 Ед/мл)

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

Рекомендуемая схема внесения образцов при использовании 12 стрипов

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	КП ₁	КП ₁	ИО2	ИО2	ИО10	ИО10	ИО18	ИО18	ИО26	ИО26	ИО34	ИО34
B	КП ₂	КП ₂	ИО3	ИО3	ИО11	ИО11	ИО19	ИО19	ИО27	ИО27	ИО35	ИО35
C	КП ₃	КП ₃	ИО4	ИО4	ИО12	ИО12	ИО20	ИО20	ИО28	ИО28	ИО36	ИО36
D	КП ₄	КП ₄	ИО5	ИО5	ИО13	ИО13	ИО21	ИО21	ИО29	ИО29	ИО37	ИО37
E	КП ₅	КП ₅	ИО6	ИО6	ИО14	ИО14	ИО22	ИО22	ИО30	ИО30	ИО38	ИО38
F	КП ₆	КП ₆	ИО7	ИО7	ИО15	ИО15	ИО23	ИО23	ИО31	ИО31	ИО39	ИО39
G	К+	К+	ИО8	ИО8	ИО16	ИО16	ИО24	ИО24	ИО32	ИО32	ИО40	ИО40
H	ИО1	ИО1	ИО9	ИО9	ИО17	ИО17	ИО25	ИО25	ИО33	ИО33	ИО41	ИО41

1. Внести в лунки планшета (как можно ближе ко дну каждой лунки) по 50 мкл контрольных проб и исследуемых образцов в соответствии со схемой их внесения.

2. Добавить в каждую лунку по 100 мкл конъюгата. Заклеить пленкой.

Внимание! Максимальная воспроизводимость результатов обеспечивается соблюдением одного и того же порядка внесения реагентов. Общее время внесения образцов и конъюгата не должно превышать 15 мин. В противном случае калибраторы следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины проб. Если для анализа используется больше одного планшета, калибровку следует выполнять для каждого планшета.

3. Инкубировать планшет при температуре 37°C на шейкере при 700 об/мин в течение 1 ч.

4. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер для сбора жидких отходов и промыть лунки 5 раз отмывающим буферным раствором, заполняя лунки до краев и выдерживая их с водой каждый раз по 10-15 с. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

5. Внести во все лунки по 100 мкл РИ и выдержать стрипы 15 - 20 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25°C.

6. Добавить по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку, соблюдая последовательность и скорость внесения в них РИ и не более чем через 15 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитывать при следующих условиях:

ОП_{кп} – более 0,9

ОП_{кп} – менее 0,150.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации СА-125 в калибровочных пробах. Для этого по точкам, ординатами которых являются полученные в ИФА средние арифметические значения ОП КП, а абсциссами – концентрации СА-125 в этих пробах, указанные на этикетках флаконов, провести кривую.

Рассчитать средние арифметические значения ОП для К⁺ и исследованных образцов и по калибровочной кривой определить концентрацию СА-125 в них (для разведенных образцов полученную по графику концентрацию СА-125 необходимо умножить на степень разведения образца).

При использовании для расчетов концентраций компьютерного программного обеспечения рекомендуется использовать линейный метод аппроксимации.

Полученные значения концентраций СА-125 в исследуемых образцах учитывать только при условии попадания полученного значения концентрации СА-125 в К⁺ в диапазон, концентраций, указанный на этикетке флакона.

Интерпретация результатов

Содержание СА-125 в норме составляет не более 35 Ед/мл.

Примечание:

Каждой лаборатории рекомендуется самостоятельно определять диапазон нормальных концентраций СА-125 с учетом используемого оборудования, способа взятия крови и методики анализа.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Замораживание не допускается.

Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С в течение 3 мес.

Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производство имеет сертифицированную на соответствие требованиям международных стандартов ISO 9001:2015, ISO 13485:2003 систему менеджмента качества.

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения антигена СА - 125 в сыворотке крови человека» "ИФА-СА-125", соответствует Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества набора "ИФА-СА-125", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93, отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

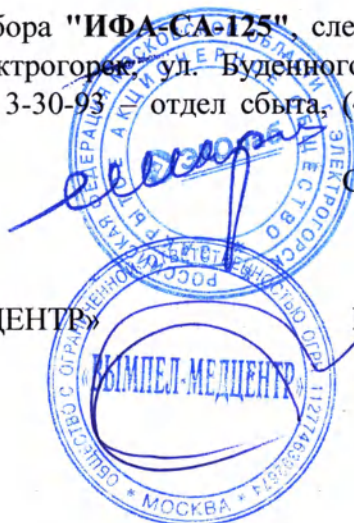
С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

«12» 10 2020 г.



**КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
(ИФА-СА-125)**

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	в соответствии со схемой постановки по 50 мкл КП ₁₋₆ , К ⁺ , исследуемых образцов и по 100 мкл конъюгата
Инкубация	1 ч, 37 °С на шейкере при 700 об/мин
Промыть	5 раз отмывающим буферным раствором
Внести	по 100 мкл РИ в каждую лунку
Инкубация	15-20 мин, 18-25 °С в защищенном от света месте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм)

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«12» 10 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варшавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

8 лист
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
«12» 10 2020 г.

