B095-101

DELFIA®/AutoDELFIA® Unconjugated Estriol (uE3) kit

Флюоресцентный иммунный анализ с разрешением по времени

Инструкция по применению. Реагенты для 96 анализов

Изготовитель:
Wallac Oy,
Mustionkatu 6, FI-20750, Turku, Finland (Финляндия)
www.perkinelmer.com

ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ *IN VITRO*

CE 0537

PerkinElmer®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОБОЗНАЧЕНИЯ



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Код партии



№ упаковки



Номер по каталогу



Годен до



Температурные ограничения



Добавить жидкость



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Обратитесь к инструкции по применению



Изготовитель



Указанное направление должно совпадать с направлением вверх



пригодно для повторного использования

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

DELFIA® / AutoDELFIA®
Unconjugated Estriol (uE3) kit

НАЗНАЧЕНИЕ

Этот набор предназначается для количественного определения неконъюгированного эстриола (uE3) в материнской сыворотке с использованием автоматической системы Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия" или иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ.

Обратите внимание, что в настоящем документе описываются две разные процедуры анализа: «Процедура анализа для автоматической системы для Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия"» и «Процедура анализа для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ». Убедитесь, что в вашей лаборатории соблюдаются применимые к системе процедуры.

Выполняя процедуру анализа для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ», используйте только оборудование, описанное в разделе «МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ТЕСТА, НО НЕ ИДУЩИЕ В КОМПЛЕКТЕ». Использование другого оборудования в этой системе не проверено и потому недопустимо.

ПРИМЕЧАНИЕ. Необходимо настроить новые значения медианы для этого обновленного анализа (B095-101). Значения медианы, установленные с помощью анализов A083-301/B083-301, нельзя использовать взаимозаменяемо с результатами анализа B095-101.

СКРИНИНГ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СИНДРОМА ДАУНА (ТРИСОМИЯ 21)

Данный набор предназначен для скрининга синдрома Дауна (трисомия 21) во втором триместре беременности.

Биохимические маркеры для скрининга риска синдрома Дауна применяются совместно с ПО для вычисления степени риска, например LifeCycle™ для пренатального скрининга.

Данный набор предназначен для использования, например, в одной из указанных далее комбинаций[1].

uE3 + hAFP + свободный ХГЧ-бета/ХГЧ
uE3 + hAFP + свободный ХГЧ-бета/ХГЧ + ингибин A

DELFIA и AutoDELFIA являются зарегистрированными товарными знаками, а LifeCycle является товарным знаком компании PerkinElmer, Inc.

[1]Необходимо соблюдать государственные или местные руководящие принципы по проведению пренатальных скрининговых исследований во всех случаях, когда данные принципы применимы.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ АНАЛИЗА

Неконъюгированный эстриол представляет собой стероид фетоплацентарного происхождения. Эстриол вырабатывается в плаценте из 16α-OH DHEA (дегидроэпиандростерон), который является производным от 16α-OH DHEA-S (дегидроэпиандростерон-сульфат) плода. В материнской сыворотке можно измерить эстриол в его неконъюгированной форме (uE3). Эстриол также соединяется с сульфатами эстриола и глюкуронидами в печени матери. Таким образом, эстриол имеется в сыворотке крови матери как в неконъюгированной форме, так и в виде различных конъюгатов. Период полувыведения эстриола, циркулирующего в сыворотке крови матери, составляет 20–30 минут. Поэтому возможные различия в фетоплацентарном создании эстриола должны быстро отражаться с помощью изменений концентрации эстриола в сыворотке крови матери [1],[2],[3].

При беременности без осложнений уровни общего и неконъюгированного эстриола в сыворотке крови матери повышаются на протяжении всей беременности до рождения ребенка. uE3 составляет примерно 9% всех форм эстриола, присутствующих в сыворотке крови матери. Считается, что uE3 лучше отражает фетоплацентарное создание эстриола, в то время как на общую концентрацию эстриола в материнской сыворотке влияет кишечно-печеночное кровообращение [3],[4],[5].

Уровень неконъюгированного эстриола в материнской сыворотке крови снижается в среднем примерно на четверть в случае беременности при наличии синдрома Дауна и может использоваться как часть мультимаркерных программ скрининга во втором триместре вместе со свободным ХГЧ или интактным ХГЧ и АФП с ингибином А или без него. Значения также снижаются в среднем при беременности с синдромом Эдвардса и Смита-Лемли-Опитца [6],[7],[8],[9],[10], [11],[12],[13].

Значения уровня эстриола у матери также использовались для отслеживания состояния плода во время беременности. Были получены сведения о низких уровнях uE3 у матери в третьем триместре беременности у недоношенных новорожденных с низкой массой тела при рождении. Обнаружено, что снижение уровня неконъюгированного или общего эстриола указывает на дистресс-синдром плода во время беременности [5],[14],[15],[16].

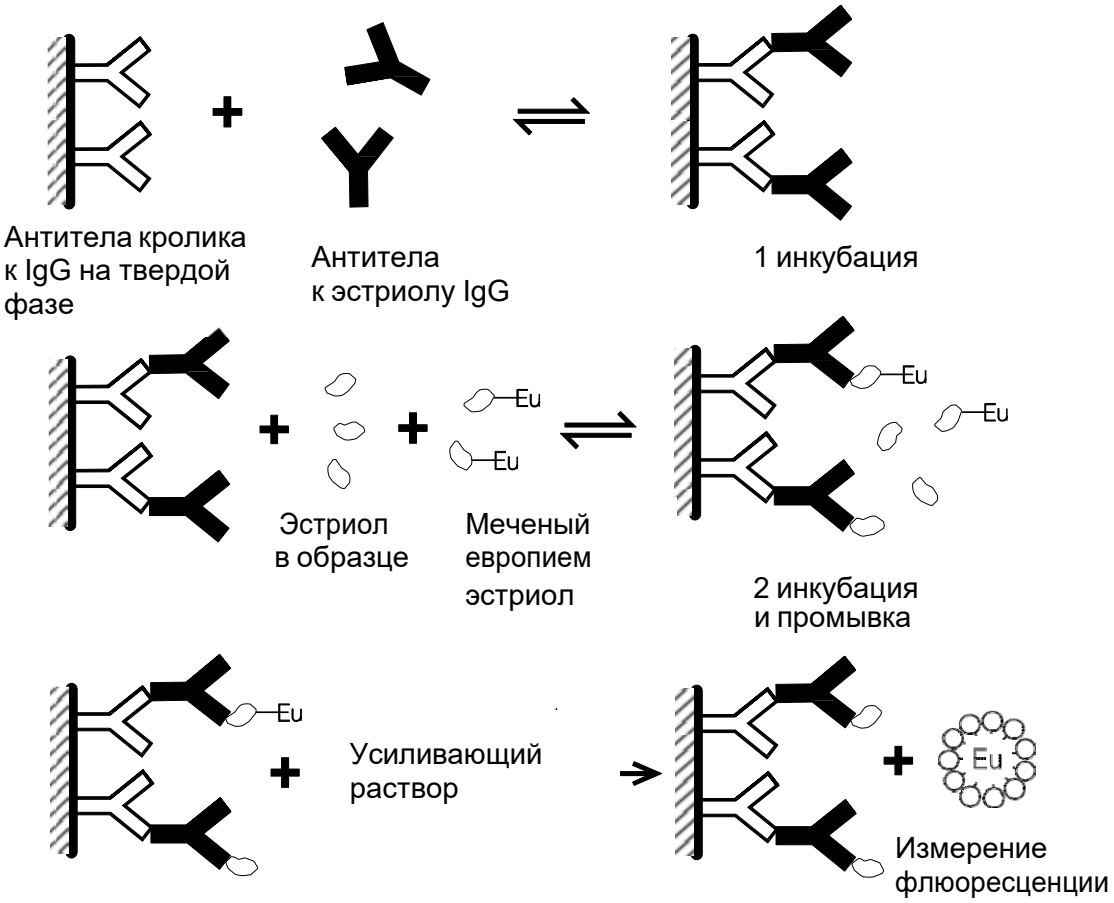
СУЩНОСТЬ АНАЛИЗА

Анализ на неконъюгированный эстриол ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ (uE3) представляет собой твердофазный флюороиммунометрический анализ с временным разрешением, основанный на конкуренции между меченым европием прогестероном и эстриолом пробы за ограниченное число центров связывания на специфичных к uE3 моноклональных антителах (кроличьего происхождения). Второе антитело, направленное против кроличьего IgG, наносится на твердую фазу, обеспечивая удобное разделение связанного с антителом антигена и свободного антигена.

Усиливающий раствор диссоциирует ионы европия из меченых антигенов в раствор, где они образуют высокофлюоресцентные хелаты с компонентами раствора усилителя. После этого измеряется флюоресценция в каждой лунке. Флюоресценция каждого образца обратно пропорциональна концентрации неконъюгированного эстриола в образце [17],[18],[19].

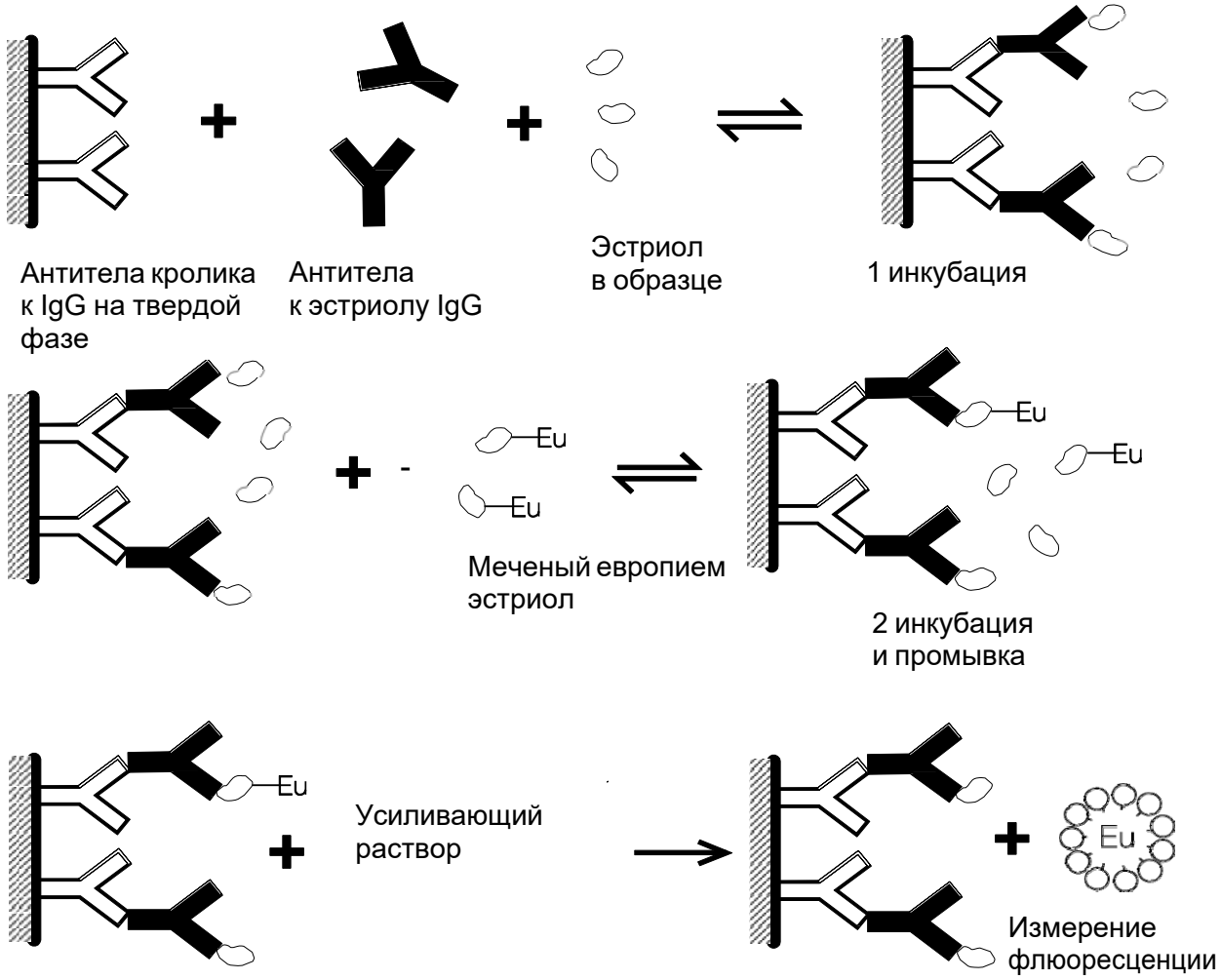
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Анализ АвтоДЕЛФИЯ



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Анализ ДЕЛФИЯ



КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Каждый набор для анализа на неконъюгированный эстриол ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ (uE3) содержит реактивы на 96 анализов.

Срок хранения нераспечатанного набора указан на внешней этикетке. Хранить при температуре +2–+8 °C.

Компоненты вскрытого набора годны для использования до 2 недель, если используются, как описано в разделе «Процедура анализа для автоматической системы Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия"» и «Процедура анализа для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Реагенты

Компонент	Количество	Условия и срок хранения
uE3 Calibrators (Калибраторы uE3) (приблизительные значения) A 0 нмоль/л B 0.6 нмоль/л C 1.2 нмоль/л D 5 нмоль/л E 15 нмоль/л F 50 нмоль/л	6 флаконов, лиофилизированные Точные концентрации uE3 указаны в прилагаемом к набору сертификате контроля качества партии.	При температуре +2–+8 °C до даты, указанной на этикетке пробирки.

Калибраторы на основе сыворотки человека. Калибраторы были откалиброваны с помощью гравиметрического метода по сертифицированному стандартному образцу (E-074, Cerilliant).

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей или проглатывании.

uE3-Eu Tracer (Метка uE3-Eu) (~ 60 нмоль/л)	1 флакон, лиофилизированная	При температуре +2–+8 °C до даты, указанной на этикетке пробирки.

Метка находится в буферном физиологическом растворе Tris-HCl (pH 7.4) с бычьим сывороточным альбумином.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей или проглатывании.

uE3 Antibody (Антитело uE3) (основной раствор)	1 пробирка, 0.95 мл	При температуре +2–+8 °C до даты, указанной на этикетке пробирки.

Антитело (моноклональное, кролик) находится в буферном физиологическом растворе Tris-HCl (pH 7.4) с бычьим сывороточным альбумином и азидом натрия (<0.1%) в качестве консерванта.

uE3 Assay Buffer (Буфер для анализа uE3)	1 флакон, 50 мл	При температуре +2–+8 °C до даты, указанной на этикетке флакона.

Готовый к использованию буферный физиологический раствор Tris-HCl (pH 7.4) с инертным красным красителем и <0.1% азида натрия в качестве консерванта.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Компонент	Количество	Условия и срок хранения
Anti-rabbit IgG Microtitration Strips. 8 x 12 wells coated with anti-rabbit antibodies (Полоски для микротитрования кроличьего иммуноглобулина IgG. 8 x 12 лунок, покрытых антителами кролика) (козьи)	1 плашка	При температуре +2–+8 °C до даты, указанной на этикетке.
Barcode labels for the reagent cassette (Этикетки со штрихкодами для кассеты реактивов)	3 шт.	Примечание. Штрихкоды индивидуальны для каждой партии.
Extra barcode labels for the plate (Дополнительные этикетки со штрихкодами для планшета)	3 шт.	Примечание. Штрихкоды индивидуальны для каждой партии.
Lot-specific quality control certificate (Сертификат контроля качества партии)	1 шт.	

МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ТЕСТА, НО НЕ ИДУЩИЕ В КОМПЛЕКТЕ

Настоящий набор для анализа на неконъюгированный эстриол ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ (uE3) предназначен для применения с автоматической системой Анализатором флюорометрическим "АвтоДелфия" или иммунологической лабораторией ДЕЛФИЯ.

Для автоматической системы Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия" требуются нижеуказанные изделия, которые можно приобрести в Wallac Oy или PerkinElmer, Inc., а также у дистрибьюторов:

1. Wash Concentrate (Промывочный буфер) (произв. № B117-100)
2. Enhancement Solution (Усиливающий раствор) (произв. № B118-100)
3. Сосуды для разведения реактивов (произв. № 1235-411)
4. Наконечники для пипеток (произв. № 1235-402)

Кроме того, для автоматической системы Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия" необходимы следующие компоненты.

- Реагентная вода для клинических лабораторий (РВКЛ, согласно стандартам Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI)) или аналогичная деионизированная вода
- пипетки для ресуспендирования лиофилизированных компонентов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ требуются нижеуказанные изделия, которые можно приобрести в Wallac Oy или PerkinElmer, Inc., а также у дистрибьюторов:

1. Счетчик многофункциональный лабораторный 1420 Victor™ D, а также принтер и компьютер
2. Аппарат лабораторный для промывки микропланшет "Делфия Плэйтвош" – DELFIA Platewash (произв. № 1296-026)
3. Встряхиватель-инкубатор для микропланшет ДЕЛФИЯ – DELFIA Plateshake (произв. № 1296-003/004)
4. Промывочный буфер (произв. № 1244-114 или B117-100)
5. Усиливающий раствор (произв. № 1244-104, 1244-105 или B118-100)
6. Пипетка для дозирования буферного раствора, разбавленного раствора метки и разбавленного раствора антител – Eppendorf Multipette (произв. № 1296-014) с насадкой 5 мл Combitips (произв. № 1296-016) или Диспенсером DELFIA с диспенсер юнит DELFIA (произв. № 1296-041 и 1296-043)
7. Пипетка для дозирования усиливающего раствора (Enhancement Solution) – Eppendorf Multipette (произв. № 1296-014) с 5 мл насадкой Combitips (произв. № 1296-016) или альтернативно Диспенсер DELFIA для раскапывания раствора в лунки плашки (произв. № 1296-041)

В дополнение к иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ требуется следующее:

- Реагентная вода для клинических лабораторий (РВКЛ, согласно стандартам Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI)) или аналогичная деионизированная вода
- точные пипетки для дозирования объемов в микролитрах и пипетки для распределения объемов в миллилитрах

ПРЕ-АНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА

ФАКТОРЫ, КОТОРЫЕ МОГУТ ОКАЗЫВАТЬ ВЛИЯНИЕ НА АНАЛИЗ

Вещества, влияющие на результат: гемолитические (гемоглобин ≤5 г/л), липемические (≤30 г/л) и желтушные (билирубин ≤200 мг/л) образцы сыворотки не влияют на результаты исследования. Использование ацетилсалициловой кислоты может привести к ложно заниженным результатам, если концентрация в образце сыворотки превышает 0.9 ммоль/л (162 мг/л). Интерферирующая концентрация ацетилсалициловой кислоты находится на низком терапевтическом уровне при применении анальгетиков (0.72–2.17 ммоль/л) [20]. Использование ацетаминофена (парацетамол) может привести к ложно завышенным результатам, если концентрация в образце сыворотки превышает 331 мкмоль/л (выше терапевтических уровней). Использование ибупрофена может привести к ложно заниженным результатам, если концентрация в образце сыворотки превышает 606 мкмоль/л (выше терапевтических уровней).

VICTOR является товарным знаком компании PerkinElmer, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СБОР И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Возьмите кровь из вены, дайте ей свернуться и отделите сыворотку центрифугированием. Образцы плазмы нельзя использовать.

Образцы можно хранить в течение 5 дней при температуре от +2 до +8 °C. Образцы нельзя хранить в течение более 1 дня при комнатной температуре (от +19 до +25 °C). Для более длительного срока следует хранить образцы при температуре –20 °C. Следует избегать повторного замораживания и размороздки.[2]

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностического применения *in vitro*.

Допускается использование этого теста только специально подготовленным персоналом.

Этот набор содержит реагенты, произведенные из компонентов человеческой крови. Человеческая кровь была проверена методами, одобренными FDA, или аналогичными на наличие поверхностного антигена гепатита B, антител к гепатиту C и ВИЧ 1 и 2 типов с отрицательным результатом анализа. Тем не менее, должны соблюдаться все необходимые меры предосторожности при работе с продуктами переработки крови. С ними можно ознакомиться в публикации министерства здравоохранения США Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Биозащита в микробиологических и биомедицинских лабораториях) или других местных или национальных нормативных документах.

Обращайтесь со всеми образцами крови пациентов как с потенциально инфицированными.

Реактивы содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Азид натрия может реагировать со свинцовыми и медными трубками, образуя взрывоопасные азиды металлов. При утилизации промывайте большим объемом воды, чтобы предотвратить накопление азида.

Лиофилизированные калибраторы uE3 и метка uE3-Eu содержат азид натрия. Порошок вреден при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании.

Все реагенты могут вызывать раздражение.

Утилизация всех отходов должна проходить в соответствии с требованиями местных нормативных документов.

[2] Исследования проведены в компании Wallac Oy, Турку, Финляндия.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Помните, что в настоящем документе описываются две разные процедуры анализа: «Процедура анализа для автоматической системы Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия"» и «Процедура анализа для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ». Убедитесь, что в вашей лаборатории соблюдаются применимые к системе процедуры.

Выполняя процедуру анализа для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ», используйте только оборудование, описанное в разделе «МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ТЕСТА, НО НЕ ИДУЩИЕ В КОМПЛЕКТЕ». Использование другого оборудования в этой системе не проверено и потому недопустимо.

Процедура анализа для автоматической Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия"

Более подробную информацию см. в руководствах пользователя Анализатора флюорометрического "АвтоДелфия". Прежде чем загружать реагенты, введите сведения о партии соответствующего набора из сертификата контроля качества в ПО рабочей станции АвтоДелфия.

К моменту использования все образцы и реагенты пациента должны иметь комнатную температуру (от +19 ДО +25 °C).

Приготовление реагентов

Реагент	Стабильность после разведения
Калибраторы uE3	2 недели при температуре от +2 до +8 °C.

Добавьте ровно 1.1 мл воды (РВКЛ, CLSI) в каждую пробирку. Дайте постоять не менее 30 минут и аккуратно перемешайте перед использованием.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей или проглатывании. Растворенные калибраторы содержат <0.1% азида натрия и не считаются вредными.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Реагент	Стабильность после разведения
Метка uE3-Eu (основной раствор)	2 недели при температуре от +2 до +8 °C.

Добавьте ровно 0.75 мл воды (РВКЛ, CLSI) в каждую пробирку. Дайте постоять не менее 30 минут и аккуратно перемешайте перед использованием.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей или проглатывании. Растворенная метка содержит <0.1% азида натрия и не считается вредной.

Промывочный раствор для процессора для планшетов	2 недели при температуре от +2 до +25 °C в герметичном контейнере.

Влейте 250 мл промывочного буфера в чистую емкость и разбавьте его в пропорции 1:25, добавив 6000 мл воды (РВКЛ, CLSI), для образования буферного промывочного раствора (pH 7.8).

Промывочный раствор для процессора для проб	1 неделя при температуре от +2 до +25 °C в герметичном контейнере.

Для приготовления промывочного раствора для процессора для образцов разбавьте промывочный буфер, добавив 50 мл промывочного буфера к 4950 мл воды (РВКЛ, CLSI) (1:100).

Калибровка

Существует несколько разных способов калибровки анализа:

a) Полная калибровочная кривая в 2-х экземплярах на каждом планшете.

b) Полная калибровочная кривая в 2-х экземплярах при всех запусках. Калибраторы C и E в 2-х экземплярах должны действовать на всех планшетах, которые не содержат полную калибровочную кривую.

c) Первые три раза для каждой новой партии наборов необходимо снимать полную калибровочную кривую в двух повторностях, на основании которых будет построена эталонная кривая для данной партии. Затем используйте калибраторы C (прибл. 1.2 нмоль/л) и E (прибл. 15 нмоль/л) вместе с эталонной кривой. Калибраторы C и E в 2-х экземплярах должны действовать на всех планшетах, которые не содержат полную калибровочную кривую (двухточечная калибровка).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Вариант калибровки выбирается в ПО АвтоДелфия. В протоколе расчета (95 UE3UPD) для анализа АвтоДЕЛФИЯ uE3 используются следующие настройки.

вычерчивание кривой:	SPLINE (SMOOTHED)	**Убедитесь, что показатели концентрации калибратора соответствуют показателям, приведенным в сертификате контроля качества партии.**
ось x:	LOG*	
ось y:	B/Bmax	
калибраторы:	Калибраторы A (кодируются как 0) и B–F в двух повторах для полной калибровки. Калибраторы C и E в 2-х экземплярах для двухточечной калибровки * Также именуемые гиперболическими в расчете анализа	

Количество повторов для неизвестных образцов по умолчанию составляет 1 и может быть изменено в протоколе анализа.

Процедура для постановки целого набора.

Внимание: 1-планшетный набор рассчитан не более чем на 2 отдельных постановки.

1. a) Загрузите или создайте сведения об исследуемых и контрольных образцах в ПО АвтоДелфия.

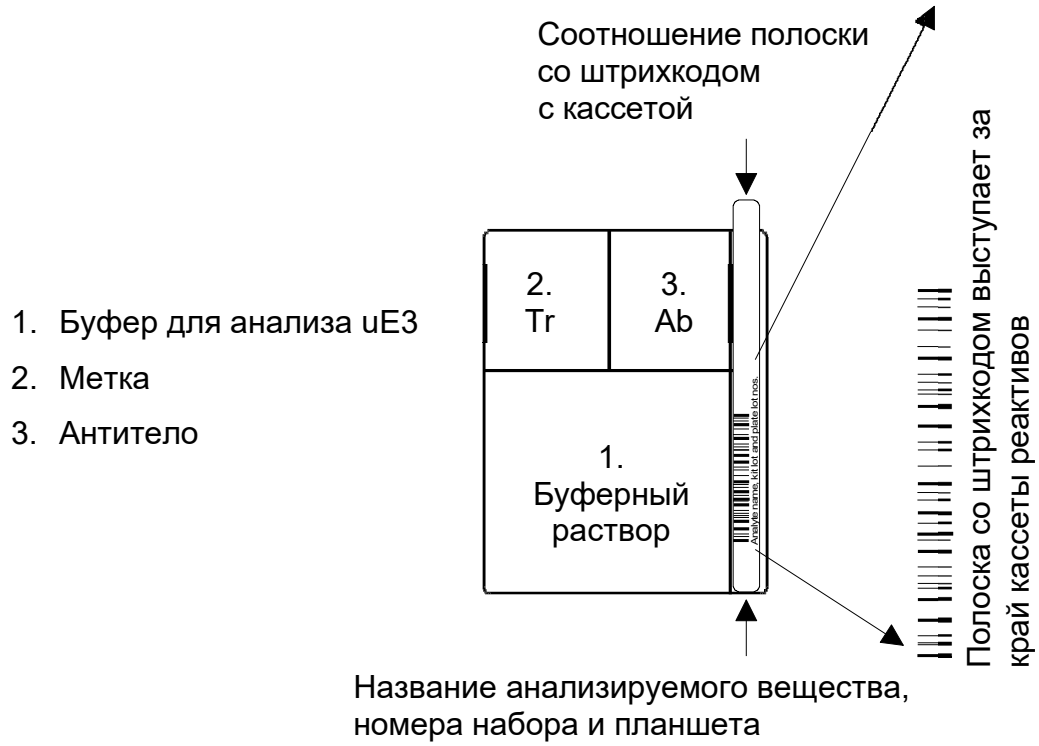
   b) Загрузите сведения о пробах, контрольных пробах и флаконах с калибраторами, в поле информации программного обеспечения. Убедитесь, что пробы и контрольные пробирки или флаконы с калибраторами не содержат пузырьков.

2. Составление графика. Проверьте и подтвердите график для оптимального порядка обработки планшетов.

3. Разместите полоску со штрихкодом в кассете реактивов, как показано в пункте 4. Замечание: Правый конец должен выступать за рамки кассеты реактивов для облегчения снятия полоски.

4. Откройте флаконы с реактивами и поместите реактивы в кассету реактивов, как показано на рисунках ниже. Закройте флаконы с метками и антителами крышками черного цвета.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



1. Буфер для анализа uE3
2. Метка
3. Антитело

5. Загрузка реагентов. Поместите кассеты с реагентами в подставку для реактивов в порядке, указанном на экране.

6. Загрузка планшета. Планшет следует загружать стороной со штрихкодом к процессору.

7. Начало анализа. Убедитесь, что в подставке для реактивов имеется достаточное количество наконечников пипеток и сосудов для разведения реактивов; оно отображается на экране.

8. Выгрузка. По окончании измерений выгрузите планшеты, пробы, реактивы и расходные материалы. Пробы, контрольные пробы и калибраторы можно выгрузить после того, как будет накапана пипеткой последняя проба или контрольная проба.

Процедура для постановки части набора:

Перед измерением:

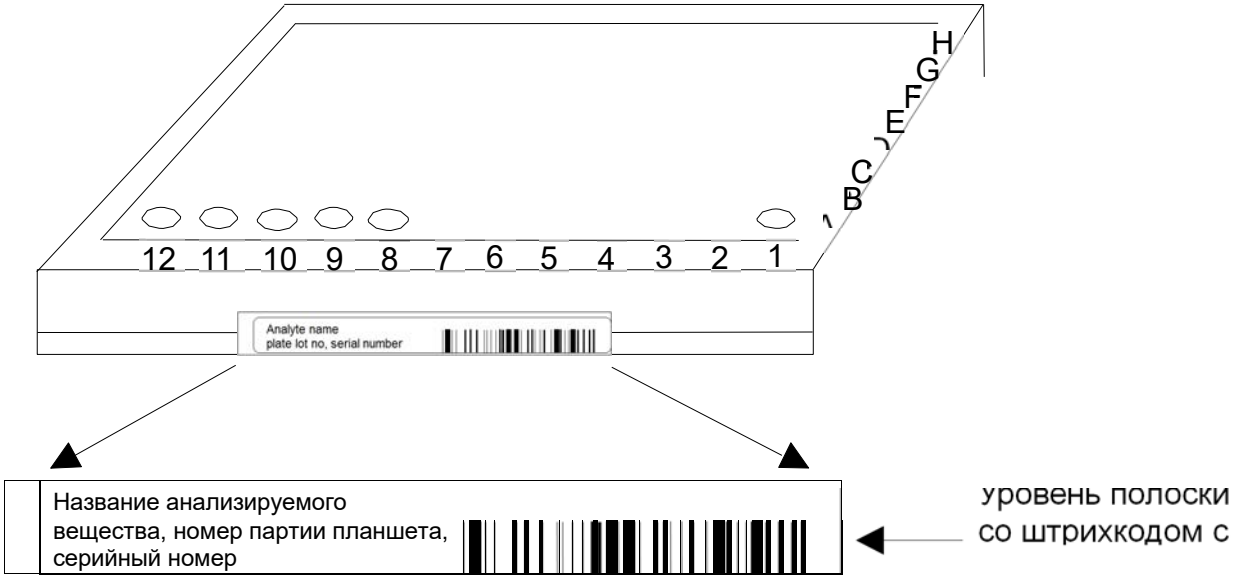
- Если используется не весь планшет, извлеките необходимое количество стрипов со штрихкодом и поместите их в рамку; пометьте ее вложенным штрихкодом планшета как показано на рисунке ниже. Убедитесь, что серийный номер, указанный на полоске со штрихкодом, в настоящее время не используется на других планшетах той же партии наборов. В противном случае воспользуйтесь другой полоской со штрихкодом. Если используется нечетное количество стрипов, возьмите один дополнительный стрип. Это будет вспомогательный стрип.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Примечание. После открытия хранить оставшиеся стрипы с влагопоглотителем при температуре от +2 до +8° С в оригинальной упаковке, помещенной в герметично закрытый полиэтиленовый пакет.

- Не смешивайте и не выбрасывайте крышки флаконов для калибратора, метки и антитела.

- Не смешивайте и не выбрасывайте крышку флакона с буфером.



После измерения:

- **Обратите внимание, что калибраторы, метка и антитела можно использовать повторно и не выбрасывать**

- Снова накройте флаконы калибратора, метки и антитела соответствующими крышками и поместите обратно в температуру от +2 до +8 °С

- Снова накройте бутылку с буфером и поставьте ее обратно в температуру от + 2 до + 8 °С.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Для успешного применения набора с процедурой анализа АвтоДЕЛФИЯ необходимо тщательно изучить вкладыш настоящей упаковки, Анализатор флюорометрический "АвтоДелфия" и соответствующее программное обеспечение.

2. Реагенты, входящие в данный набор, предназначены для комплексного использования. Не смешивайте идентичные реагенты из разных партий.

3. Не используйте реагенты после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

4. Любые отклонения от процедуры анализа могут негативно повлиять на результат.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Температура реактивов должна быть доведена до комнатной (от +19 до +25 °C). Замороженные образцы пациента следует медленно довести до комнатной температуры и слегка перемешать вручную, несколько раз перевернув пробирку с образцом. Нельзя сильно встряхивать или смешивать образцы пациентов. Пена в образцах, калибраторах или контрольных пробах приводит к ошибочной оценке уровня жидкости.

6. Следует избегать загрязнения европием, поскольку оно создает высокую фоновую флуоресценцию. Замену флакона с усиливающим раствором следует проводить осторожно, не касаясь трубок.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

DELFIA/AutoDELFIA Unconjugated Estriol (uE3) kit
Обзор процедуры анализа АвтоДЕЛФИЯ

ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ	АвтоДЕЛФИЯ
Введите конкретную информацию о партии набора из сертификата контроля качества	
Восстановите калибраторы (1.1 мл воды (РВКЛ, CLSI), 30 мин.)	
Восстановить метку (0.75 мл воды (РВКЛ, CLSI), 30 мин.)	
Промойте процессор для проб промывочным раствором, удалите пузырьки из пробирок	
Проверьте/наполните расходные материалы	
Загрузка или создание сведений об образцах - Выберите режим калибровки - загрузите калибраторы, пробы, контрольные пробы	
Составление графика	
Загрузите реактивы	Разведение антител (1:50)
Загрузите планшеты	Дозирование раствора антитела (125 мкл/лунку)
Начните измерение	Инкубация (30 мин)
	Дозирование образцов (75 мкл/лунку)
	Разведение метки (1:50)
	Дозирование раствора метки (50 мкл/лунку)
	Инкубация (1 ч)
	Промывка (x 6)
	Дозирование усиливающего раствора (200 мкл/лунку)
	Встряхивание/инкубация (5 мин)
	Измерение
<u>После измерения</u>	
Выгрузите пробы и калибраторы	
Выгрузите планшеты	
Выгрузите реактивы	

НАПОМИНАНИЯ:

Пробы не должны содержать пузырьки или пену
Пробирки с пробами должны плотно сидеть в штативе

Убедитесь, что реактивы занимают правильное положение в кассете реактивов
Кассета реактивов и планшеты должны быть маркированы соответствующими штрихкодами

Убедитесь, что на каждом планшете используются соответствующие калибраторы

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Процедура анализа ДЕЛФИЯ

Выполняя процедуру анализа для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ», используйте только оборудование, описанное в разделе «МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ТЕСТА, НО НЕ ИДУЩИЕ В КОМПЛЕКТЕ». Использование другого оборудования в этой системе не проверено и потому недопустимо.

Внимание: 1-планшетный набор рассчитан не более чем на 2 отдельных постановки.

Калибраторы и неизвестные образцы должны ставиться в дублях (2 лунки на образец). Полная калибровочная кривая в 2-х экземплярах при всех измерениях. К моменту использования все образцы и реагенты пациента должны иметь комнатную температуру (от +19 до +25 °C). Обратите внимание, что температура инкубации должна быть постоянной.

1. Приготовление реагентов	Стабильность после разведения
Калибраторы uE3	2 недели при температуре от +2 до +8 °C.

Добавьте ровно 1.1 мл воды (РВКЛ, CLSI) в каждую пробирку. Дайте постоять не менее 30 минут и аккуратно перемешайте перед использованием.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей или проглатывании. Растворенные калибраторы содержат <0.1% азида натрия и не считаются вредными.

Метка uE3-Eu (основной раствор)	2 недели при температуре от +2 до +8 °C.

Добавьте ровно 0.75 мл воды (РВКЛ, CLSI) в каждую пробирку. Дайте постоять не менее 30 минут и аккуратно перемешайте перед использованием.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей или проглатывании. Растворенная метка содержит <0.1% азида натрия и не считается вредной.

Промывочный раствор	2 недели при температуре от +2 до +25 °C в герметичном контейнере.

Для получения буферного промывочного раствора (pH 7.8) влейте 40 мл промывочного буфера в чистую емкость и разбавьте в 25 раз, добавив 960 мл воды (РВКЛ, согласно стандартам Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI)).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Приготовление реагентов	Стабильность после разведения
Антитело uE3	**Подготовка для использования в течение часа.**

Подготовьте необходимое количество раствора антитела, смешав 40 мкл основного раствора антитела и 2.0 мл буфера для анализа uE3 на стрип (см. таблицу в разделе «Обзор процедуры анализа ДЕЛФИЯ»).

Важно, чтобы растворы антител и меток готовились отдельно, а буфер для анализа uE3 не контактировал с основным раствором метки, не предназначенным для немедленного использования.

Для приготовления рабочих растворов антител и меток рекомендуется использовать одноразовые пластиковые контейнеры.

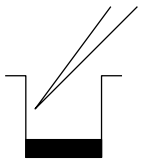
Метка uE3-Eu	**Подготовка для использования в течение часа.**

Подготовьте необходимое количество раствора метки, смешав 20 мкл основного раствора метки и 1.0 мл буферного раствора uE3 на стрип (см. таблицу в разделе «Обзор процедуры анализа ДЕЛФИЯ»).

2. Поместите требуемое количество стрипов микротитрования на рамку.

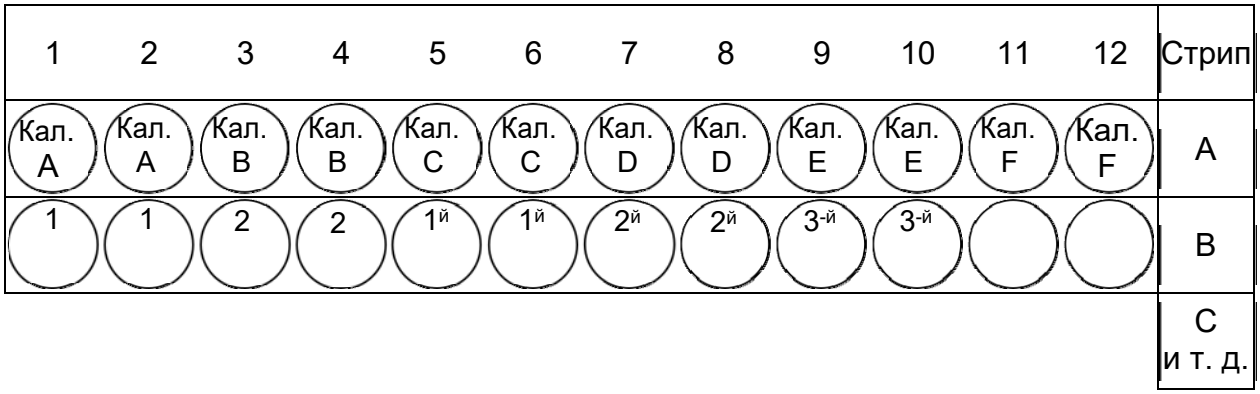
3. Примечание. После открытия хранить оставшиеся стрипы с влагопоглотителем при температуре от +2 до +8° C в оригинальной упаковке, помещенной в герметично закрытый полиэтиленовый пакет.

4. С помощью пипетки добавьте 125 мкл разбавленного раствора антител uE3 в каждую лунку с помощью **рекомендованного устройства Eppendorf Multipette** после слива первой аликвотной пробы или использования блока дозирования Диспенсер Юнит DELFIA. Избегайте переноса, удерживая кончик пипетки на незначительном расстоянии от верхней части лунки, а также не прикасайтесь к пластиковой полоске или поверхности жидкости.



5. Добавьте 75 мкл калибраторов uE3 (Cal), контролей (Ctrl) и образцов сыворотки (неизвестные образцы (Unk)) в лунки полосок. Опустошите наконечник дозатора, коснувшись пластикового стрипа, но не поверхности жидкости. Далее идет карта заполнения планшета как в образце. Каждая лаборатория самостоятельно выбирает оптимальное размещение контрольных и опытных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



6. Инкубируйте планшет в течение 45–50 минут при комнатной температуре (от +19 до +25 °C), встряхивая в **медленном режиме** с помощью устройства Встряхиватель-инкубатор для микропланшет ДЕЛФИЯ

7. Добавьте 50 мкл разбавленного раствора метки uE3-Eu в каждую лунку. Пипетирование следует выполнять, как для раствора антител в шаге 4 выше.

8. Инкубируйте планшет в течение 75–80 минут при комнатной температуре (от +19 до +25 °C), встряхивая в **медленном режиме** с помощью устройства Встряхиватель-инкубатор для микропланшет ДЕЛФИЯ

9. После этапа инкубации промойте каждый стрип с помощью Аппарата лабораторного для промывки микропланшет "Делфия Плэйтвош", используя программу 83 (мыть).

10. Накапайте 200 мкл усиливающего раствора прямо из бутылки с реактивом в каждую лунку, используя **рекомендованное устройство Eppendorf Multipette** после однократной промывки насадки Combitip усиливающим раствором (вылить), или используйте дозатор Диспенсер DELFIA. Снова наполните насадку Combitip и выбросьте первую аликвотную пробу. Не допускайте касания края лунки или ее содержимого.

11. **Плавно** встряхивайте планшет в течение 5 минут. Флюоресценция стабильна в течение нескольких часов, если предотвратить испарение. Однако, мы рекомендуем провести измерение в пределах 1 часа, поскольку внешние факторы могут вызвать уменьшение сигнала со временем, хотя это случается чрезвычайно редко.

12. Убедитесь, что каждый стрип был твердо зафиксирован в рамке и измерьте флюоресценцию Счетчиком многофункциональным лабораторным 1420 Victor D.

    Выберите «UE3UPD» на панели Protocols/Kits (Протоколы/наборы) Prenatal (Пренатальный) и укажите количество планшетов и образцов. В протоколе расчета (UE3UPD) для анализа DELFIA uE3 используются следующие настройки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

вычерчивание кривой:	SPLINE (SMOOTHED)	**Убедитесь, что показатели концентрации калибратора соответствуют показателям, приведенным в сертификате контроля качества партии.**
ось x:	LOG	
ось y:	B/Bmax	
калибраторы:	Калибраторы A (кодируются как 0) и B–F в двух повторах для полной калибровки.	

Должна выполняться полная калибровочная кривая в 2-х экземплярах при всех запусках.

Количество повторов для неизвестных образцов по умолчанию составляет 2. При изменении числа повторов для исследуемых величин, соответственно измените и протокол (см. руководство счетчика для редактирования параметров).

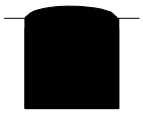
ПРИМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. При выполнении процедуры анализа ДЕЛФИЯ всестороннее понимание назначения компонентов теста необходимо для его успешного проведения. Реагенты, входящие в данный набор, предназначены для комплексного использования. Не смешивайте идентичные реагенты из разных партий. Не используйте реагенты после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

2. Любые отклонения от процедуры анализа могут негативно повлиять на результат.

3. Температура реактивов должна быть доведена до комнатной (от +19 до +25 °C). Замороженные образцы пациента следует медленно довести до комнатной температуры и слегка перемешать вручную, несколько раз перевернув пробирку с образцом. Нельзя сильно встряхивать или смешивать образцы пациентов.

4. При промывке стрипов обеспечьте, чтобы каждая лунка была полностью наполнена до верхнего края, как показано на рисунке. После промывки стрипов, убедитесь, что лунки сухие.



   Подробная информация о чистке и обслуживанию промывочного устройства изложена в руководстве аппарата лабораторного для промывки микропланшет "Делфия ПлэйтВош".

5. Предотвращение загрязнения европием, дающим высокую фоновую флуоресценцию, требует высокого мастерства раскапывания из пипетки и технологии промывки. Таким образом, чрезвычайно важно использовать пипетки, рекомендуемые для применения с иммунологической лабораторией ДЕЛФИЯ, только по назначению.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Усиливающий раствор необходимо распределять, используя только рекомендованное устройство Eppendorf Multipette после предварительной промывки насадки Combitip усиливающим раствором согласно рекомендациям по использованию. Одну и ту же насадку Combitip нельз использовать для раскапывания любого другого реактива. После использования закрепите Eppendorf Multipette на штативе для пипеток с присоединенной насадкой Combitip.

При применении Диспенсера DELFIA пользуйтесь руководством.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

DELFIA/AutoDELFIA Unconjugated Estriol (uE3) kit

Обзор процедуры анализа ДЕЛФИЯ

<table>
<tr><td>Восстановить метку</td><td></td><td colspan="5">0.75 мл воды
(РВКЛ, CLSI),
не менее 30 мин.</td></tr>
<tr><td>Восстановите калибраторы</td><td></td><td colspan="5">1.1 мл воды
(РВКЛ, CLSI),
не менее 30 мин.</td></tr>
<tr><td rowspan="10">Разбавление основного раствора антитела (см. таблицу) (Подготовка в течение часа использования)

Разбавление основного раствора метки (см. таблицу) в течение 1 этапа инкубации, в течение часа использования.</td><td rowspan="10"></td><td>Стрипы</td><td>Основной раствор антител (мкл)</td><td>Буфер (мл)</td><td>Основной раствор метки (мкл)</td><td>Буфер (мл)</td></tr>
<tr><td>1</td><td>40</td><td>2.0</td><td>20</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>2</td><td>80</td><td>4.0</td><td>40</td><td>2.0</td></tr>
<tr><td>3</td><td>120</td><td>6.0</td><td>60</td><td>3.0</td></tr>
<tr><td>4</td><td>160</td><td>8.0</td><td>80</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>5</td><td>200</td><td>10</td><td>100</td><td>5.0</td></tr>
<tr><td>6</td><td>240</td><td>12</td><td>120</td><td>6.0</td></tr>
<tr><td>7</td><td>280</td><td>14</td><td>140</td><td>7.0</td></tr>
<tr><td>8</td><td>320</td><td>16</td><td>160</td><td>8.0</td></tr>
<tr><td>Добавьте раствор антител</td><td></td><td colspan="5">125 мкл</td></tr>
<tr><td>Добавление калибраторов и контрольных проб</td><td></td><td colspan="5">75 мкл</td></tr>
<tr><td>Инкубация</td><td></td><td colspan="5">45–50 мин. встряхивания
в медленном режиме на RT</td></tr>
<tr><td>Добавьте раствор метки</td><td></td><td colspan="5">50 мкл</td></tr>
<tr><td>Инкубация</td><td></td><td colspan="5">75–80 мин. встряхивания
в медленном режиме на RT</td></tr>
<tr><td>Промывка</td><td></td><td colspan="5">Программа 83 (x 6)</td></tr>
<tr><td>Добавьте усиливающий раствор</td><td></td><td colspan="5">200 мкл,
5 мин плавного встряхивания</td></tr>
<tr><td>Измерьте флюоресценцию</td><td></td><td colspan="5">UE3UPD
(проверьте значения концентрации по сертификату качества QC)</td></tr>
</table>

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПОСТ-АНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор флюорометрический "АвтоДелфия" и иммунологическая лаборатория ДЕЛФИЯ включают программы обработки информации и представляют результаты в виде распечаток калибровочных кривых, концентраций контрольных и исследуемых образцов и т. п.

Оценка риска возникновения синдрома Дауна рассчитывается при помощи программного обеспечения, например с помощью программного обеспечения для оценки пренатального риска LifeCycle.

ПРИМЕЧАНИЕ. Необходимо настроить новые значения медианы для этого обновленного анализа (B095-101). Значения медианы, установленные с помощью анализов A083-301/B083-301, нельзя использовать взаимозаменяемо с результатами анализа B095-101.

Контроль качества

Для гарантии точности ежедневных результатов рекомендуется использовать контрольные сыворотки. Контрольные образцы должны проверятся таким же образом, как и исследуемые образцы пациента. Лаборатории рекомендуется приготовить собственные сывороточные пулы различных уровней или же использовать коммерческие контрольные образцы. Если исследование включает больше, чем один планшет, контрольные образцы должны использоваться на каждом планшете. Результаты по пациентам считаются действительными только в том случае, если показатели контрольных образцов не выходят за пределы допустимых отклонений, принятых в лаборатории [21].

Мы также рекомендуем лабораториям участвовать в схемах контроля качества.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Как и при всех скрининговых тестах, окончательное клиническое заключение не должно основываться на результатах единственного теста, — его должен делать врач после оценки результатов всех клинических и лабораторных исследований. Необходимо соблюдать государственные или местные руководящие принципы по проведению пренатальных скрининговых исследований во всех случаях, когда данные принципы применимы. Wallac Oy не несет ответственности за принимаемые клинические решения.

Факторы риска, выявляемые программным обеспечением для оценки пренатального риска LifeCycle, являются ориентирами для врачей при оценке вероятности патологических нарушений у плода. Их интерпретация должна производиться врачом с учетом всех других значимых факторов. Wallac Oy не несет ответственности за индивидуальные риски, вычисленные с помощью любых других программ.

Различия в популяции могут привести к изменению значений медианы. Показатели обнаружения могут варьироваться в зависимости от данных о населении.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Оптимальной эффективности скрининга можно достигнуть только при использовании точного определения срока беременности.

Обратите внимание, что комнатная температура во время инкубации при процедуре анализа ДЕЛФИЯ должна быть постоянной и находиться в диапазоне от +19 до +25 °C. Если проводить процедуру при разных температурах, могут быть обнаружены отклонения в измеренных уровнях uE3.

Образцы плазмы нельзя использовать.

См. также разделы «ПРЕ-АНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА» и «ПРИМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ».

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учтите, что значения, приведенные в этом разделе, являются приблизительными и каждая лаборатория должна установить свои собственные параметры.

ПРИМЕЧАНИЕ. Необходимо настроить новые значения медианы для этого обновленного анализа (B095-101). Значения медианы, установленные с помощью анализов A083-301/B083-301, нельзя использовать взаимозаменяемо с результатами анализа B095-101.

Величины концентрации uE3 в сыворотке в различные сроки беременности представлены в таблице 1. Эти величины приводятся только в качестве примера и не должны использоваться для стандартных скрининговых анализов, проводящихся в лечебном учреждении. Необходимо, чтобы в каждой скрининговой лаборатории были установлены свои собственные медианы, поскольку существуют различия, обусловленные особенностями популяции, состоянием будущей матери и плода. Помните, что температура окружающей среды также может повлиять на средние значения в случае процедуры ДЕЛФИЯ (см. раздел «ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ»).

Таблица 1. Типичные величины концентрации uE3, получаемые в анализе для определения содержания uE3 ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ во 2 триместре беременности[3]

Срок беременности	Количество образцов	Концентрация uE3 (нмоль/л)		
		5-й процентиль	Медиана	95-й процентиль
14	137	1.02	1.66	2.74
15	151	1.58	2.53	3.91
16	160	2.08	3.34	4.50
17	154	2.44	4.17	6.26
18	151	3.37	5.30	7.44
19	156	4.00	6.20	9.48
20	50	4.73	7.67	12.4
21	49	6.02	9.08	12.5

[3] Исследования проводились в лаборатории по изучению материнской сыворотки в г. Ньюкасл-апон-Тайн, Великобритания, а также в компании Wallac Oy, Турку, Финляндия.

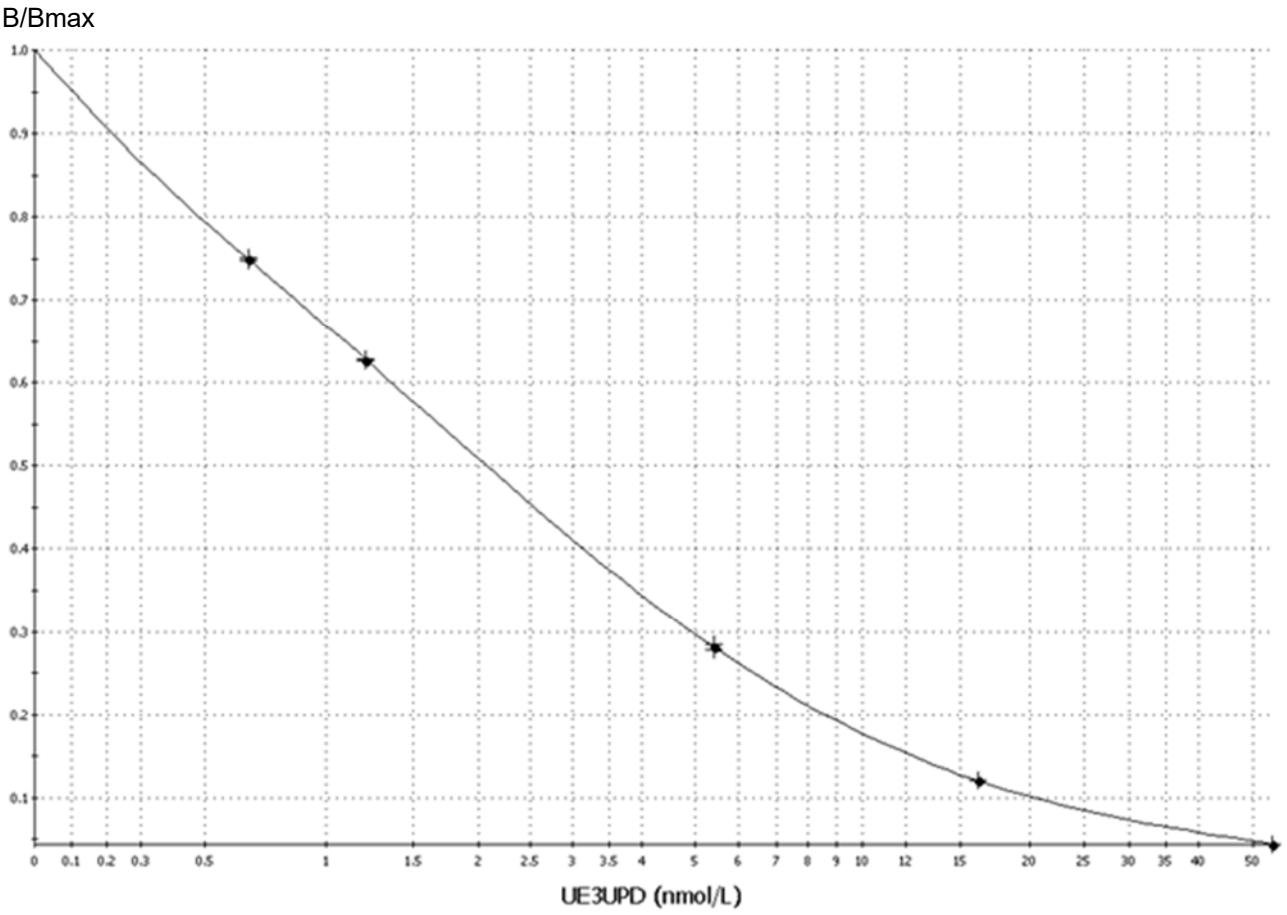
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИТИЧЕСКОГО МЕТОДА[4]

Диапазон измерения набора анализа на неконъюгированный эстриол ДЕЛФИЯ/ АвтоДЕЛФИЯ (uE3) охватывает диапазон концентраций от 0.4 нмоль/л до самого высокого значения калибратора, номинальное значение 50 нмоль/л.

Репрезентативные данные результативности приведены ниже. Результаты, полученные в отдельных лабораториях, могут отличаться от приведенных.

Далее представлена типичная калибровочная кривая, полученная в анализе B095-101 ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ на неконъюгированный эстриол (uE3).



Точность: точность была определена в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенными в документе EP05-A3 [22].

Вариация набора B095-101 ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ с неконъюгированным эстриолом (uE3) с использованием процедуры анализа для автоматической системы Анализатор флюорометрический "АвтоДелфия" определялась с помощью образцов сыворотки, трех партий набора и трех инструментов АвтоДелфия. Исследование проводили в течение 23 дней с выполнением 45 измерений, в каждом из которых исследовали два планшета по 2–4 повтора на каждый образец каждого планшета. Общее количество измерений составило 252 на каждый образец. Ниже представлены таблицы результатов, вычисленных с использованием дисперсионного анализа:

[4] Исследования проведены в компании Wallac Oy, Турку, Финляндия.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2. Данные точности uE3 при выполнении анализа АвтоДЕЛФИЯ с помощью полной калибровочной кривой для каждого планшета.

Образец	Средняя (нмоль/л)	n	Сходимость (разброс в пределах планшета)		Внутрилабораторный разброс с разными приборами (разброс в пределах партии наборов)		Внутрилабораторный разброс с разными приборами и партиями наборов (общий разброс)	
			СО	КВ %	СО	КВ %	СО	КВ %
1	0.7	252	0.1	9.6	0.1	10.3	0.1	10.6
2	1.4	252	0.1	7.4	0.1	7.7	0.1	7.9
3	3.9	252	0.1	3.4	0.2	4.2	0.2	4.2
4	7.5	252	0.2	3.1	0.3	3.6	0.3	3.8
5	23.3	252	0.9	3.8	1.1	4.6	1.1	4.6
6	43.9	252	1.4	3.3	1.7	3.8	1.7	3.9

Вариация набора B095-101 ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ с неконъюгированным эстриолом (uE3) с использованием процедуры анализа для иммунологической лаборатории ДЕЛФИЯ определялась тремя операторами с помощью образцов сыворотки и трех партий набора. Исследование проводили в течение 23 дней с выполнением 45 измерений, в каждом из которых исследовали один планшет по четыре повтора на каждый образец. Общее количество измерений составило 180 на каждый образец. Ниже представлены таблицы результатов, вычисленных с использованием дисперсионного анализа:

Таблица 3. Данные точности uE3 при выполнении анализа ДЕЛФИЯ с помощью полной калибровочной кривой для каждого планшета.

Образец	Среднее содержание (нмоль/л)	n	Сходимость (разброс в пределах планшета)		Внутрилабораторный разброс с разными приборами (разброс в пределах партии наборов)		Внутрилабораторный разброс с разными приборами и партиями наборов (общий разброс)	
			СО	КВ %	СО	КВ %	СО	КВ %
1	0.7	180	0.1	13.5	0.1	16.0	0.1	17.6
2	1.3	180	0.1	10.3	0.2	11.0	0.2	11.1
3	3.9	180	0.2	4.9	0.2	6.2	0.3	6.7
4	7.4	180	0.4	5.3	0.5	6.7	0.5	6.8
5	23.2	180	1.4	6.0	1.9	8.2	2.0	8.6
6	45.3	180	2.1	4.6	2.7	6.0	2.7	6.0

LoB, LoD и LoQ: предел холостого образца, предел обнаружения и предел количественного определения вычисляли в соответствии с документом CLSI EP17-A2 [23].

Предел пустой пробы (LoB) для набора ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ для анализа на неконъюгированный эстриол (uE3) составляет 0.1 нмоль/л, определяется как 95-й процентиль распределения пустых проб (n=150). Предел обнаружения (LoD) равен 0.3 нмоль/л, он был определен в ходе 84 определений (процедура анализа АвтоДЕЛФИЯ) и 60 определений (процедура анализа ДЕЛФИЯ) проб с низким уровнем активности и вышеуказанного LoB. Предел количественного определения

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(LoQ) составил 0.4 нмоль/л, определенный по наименьшей концентрации вещества с общим значением КВ <20% (n= 252 у АвтоДЕЛФИЯ, n= 180 у ДЕЛФИЯ).

Воспроизводимость: образцы сыворотки крови были приготовлены путем добавления различных уровней сертифицированного эталонного материала эстриола (E-074, Cerilliant) к образцам сыворотки, содержащим известное количество неконъюгированного эстриола (uE3). Общая средняя воспроизводимость в анализе АвтоДЕЛФИЯ составила 101% (ДИ 95%: 99–103%), а в анализе ДЕЛФИЯ составила 107% (ДИ 95%: 103–111%).

Воспроизводимость: исследование линейности проводилось в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенными в документе EP06-A [24].

Было определено, что анализ неконъюгированного эстриола (uE3) ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ является линейным от 0.24 нмоль/л до 77.4 нмоль/л с 18 образцами. Максимальная наблюдаемая разница составила –11.7% для модели линейной регрессии в пределах этого интервала.

Специфичность анализа:

Перекрестная реактивность:

Для набора ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ для анализа на неконъюгированный эстриол (uE3) перекрестная реактивность с другими веществами представлена в следующей таблице.

Таблица 4. Результаты исследования перекрестной реактивности.

Исследуемое вещество	**Перекрестная реактивность**
15α-гидроксиэстриол	19.5%
16,17-эпиэстриол	14.1%
16-эпиэстриол	1.2%
17-эпиэстриол	<0.1%
Эстриол-2-метиловый эфир	<0.1%
Эстриол-16α-глюкуронид	<0.1%
Эстриол-3-глюкуронид	<0.1%
Эстриол-3-сульфат	<0.1%
Эстриол-17-сульфат	<0.1%
Эстрон	0.3%
16α-гидроксиэстрон	0.9%
Эстрон-3-сульфат	0.2%

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Исследуемое вещество	**Перекрестная реактивность**
Эстрон-3-глюкуронид	<0.1%
Эстрон-2-метиловый эфир	<0.1%
Эстрадиол	0.1%
Эстрадиол-2-метиловый эфир	<0.1%
Эстрадиол-3-сульфат	<0.1%
16-кетоэстрадиол	0.3%

Вещества, влияющие на результат: исследование мешающего воздействия проводилось в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенными в документе EP07-A2 [20].

В сыворотки, которые могут оказать мешающее влияние, содержащие неконъюгированный эстриол (uE3) в двух концентрациях (прибл. 1.6 и 7.4 нмоль/л), добавляли нижеуказанные вещества, и было установлено, что они не оказывают мешающего воздействия в нижеуказанных концентрациях.

Таблица 5. Результаты исследования мешающего воздействия

Исследуемое вещество	**Концентрация исследуемого вещества или pH**
Ацетаминофен (парацетамол)*	331 мкмоль/л*
L-аскорбиновая кислота	342 мкмоль/л
Ацетилсалициловая кислота (аспирин)*	0.9 ммоль/л*
Связанный билирубин	342 мкмоль/л
Несвязанный билирубин	342 мкмоль/л
Кофеин	308 мкмоль/л
Кальций	5.0 ммоль/л
Этанол	86.8 ммоль/л
Гентамицин	21 мкмоль/л
Гемоглобин (RBC)	5 г/л
Ибупрофен*	606 мкмоль/л*
pH	6.8, 7.3, 7.8, 8.3, 8.8 и 9.3
Гамма-глобулин (общий белок)	120 г/л
α2-макроглобулин	220 мг/100 мл
Глобулин, связывающий половые гормоны	380 нмоль/L
Гаптоглобин	200 мг/дл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Исследуемое вещество	Концентрация исследуемого вещества или pH
Триглицериды	30 г/л
Фолиевая кислота	3 мг/л
Никотин	6.2 мкмоль/л
Гепарин (LMW 4000-6000 Da)	3000 ед./л

* Было определено, что эти вещества могут мешать при более высоких концентрациях, которые указаны в таблице.

Метод сравнения: при сравнении методов соблюдались требования Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенные в документе EP09-A3 [25].

Процедуру анализа АвтоДЕЛФИЯ набора B095-101 ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ неконъюгированного эстриола (uE3) (y) сравнивали с набором B083-301 Эстриол (неконъюгированный) АвтоДЕЛФИЯ. Образцы пациентов (среднее значение повторяющихся измерений) находились в диапазоне 0.4–50 нмоль/л у набора B095-101 и в диапазоне 0.6–50 нмоль/л у набора B083-301.

Взаимосвязь между методами: y=0.86x–0.33 (взвешенная регрессия Деминга); (n=107)
Коэффициент корреляции (линейная регрессия): r=0.988; (n=107)

Корреляция:

Процедуру анализа АвтоДЕЛФИЯ набора B095-101 ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ неконъюгированного эстриола (uE3) (y) сравнивали с процедурой анализа набора DELFIA B095-101 неконъюгированного эстриола ДЕЛФИЯ/АвтоДЕЛФИЯ (uE3) (x) с помощью образцов пациентов (среднее значение повторяющихся измерений) в диапазоне 0.4–50 нмоль/л. Средняя разница уровней составила 3.2%.

Взаимосвязь между методами: y=1.03x + 0.02 (взвешенная регрессия Деминга); (n=108)
Коэффициент корреляции (линейная регрессия): r=0.996; (n=108)

ГАРАНТИЯ

Все представленные данные были получены в ходе описанных исследований. Любое изменение процедуры не рекомендовано производителем и может негативно повлиять на результат, в этом случае компания Wallac Oy и ее подразделения не несут гарантийных обязательств.

Компания Wallac Oy, ее подразделения и авторизованные дистрибьюторы в этом случае не несут ответственности за ущерб, прямой или косвенный.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПЕРЕЧЕНЬ ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Diczfalusy, E. and Mancuso, S. (1969): Oestrogen metabolism in pregnancy. In Foetus and Placenta, Eds. A. Klopper and E. Diczfalusy. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp.191–248.

[2] Yuong, B.K., Jirku, H., Kadner, S. and Levitz, M. (1976): Renal clearance of estriol conjugates in normal human pregnancy at term. Am. J. Obstet. Gynecol., **126**, 38–42.

[3] Katagiri, H., Distler, W., Freeman, R.K. and Goebelsmann, U. (1976): Estriol in pregnancy. Normal concentrations, diurnal and/or episodic variations, day-to-day changes of unconjugated estriol and total estriol in late pregnancy and plasma. Am. J. Obstet. Gynecol., **124**, 272–280.

[4] Goebelsmann, U. and Jaffe, R.B. (1971): Oestriol metabolism in pregnant women. Acta Endocrinol. **66**, 679–693.

[5] Bashore, R.A. and Westlake, J.R. (1977): Plasma unconjugated estriol values in high-risk pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., **128**, 371–380.

[6] Cuckle, H. (1995): Improved parameters for risk estimation in Down's syndrome screening. Prenat. Diagn., **15**, 1057–1065.

[7] Cuckle, H. (2001): Integrating Down’s syndrome screening. Curr. Opin. Obstet. Gynecol., **13**, 175–181.

[8] Cuckle, H. (1996): Established markers in second trimester maternal serum. Early Human Development, **47** Suppl., pp. 27–29.

[9] Canick, J.A. et al. (1988): Low second trimester maternal serum unconjugated estriol in pregnancies with Down's syndrome. Br. J. Obstet. Gynecol., **95**, 330–333.

[10] Wald, N.J. et al. (1988): Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. Br. Med. J., **297**, 883–887.

[11] Haddow, J.E. et al. (1992): Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. N. Engl. J. Med. **9**, 588–593.

[12] Cuckle, H. (1992): Measuring unconjugated estriol in maternal serum to screen for foetal Down's syndrome. (Editorial) Clin. Chem., **38/9**, 1687–1689.

[13] Palomaki, G.E. et al. (2002): Assigning risk for Smith-Lemli-Opitz syndrome as part of 2nd trimester screening for Down’s syndrome. J. Med. Screen. **9**, 43-44

[14] Heap, R.B. (1972): Role of hormones in pregnancy. In Reproduction in Mammals, Book 3: Hormones in Reproduction, Eds. C.R. Austin and R.V. Short. Cambridge Press, pp. 73–105.

[15] Klopper, A.I. et al. (1977): Observations on the variability of plasma estriol. Obstet. Gynecol., **49**, 459-461.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

[16] Cleary, R.E. and Young, P.C.M. (1974): Serum unconjugated estriol in normal and abnormal pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., **118**, 18–24.

[17] Soini, E. and Kojola, H. (1983): Time-resolved fluorometer for lanthanide chelates - a new generation of nonisotopic immunoassays. Clin. Chem. **29**, 65–68.

[18] Hemmilä, I., Dakubu, S., Mukkala, V-M., Siitari, H. and Lövgren, T. (1984): Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays. Anal. Biochem. **137**, 335–343.

[19] Lövgren, T., Hemmilä, I., Pettersson, K. and Halonen, P. (1985): Time-resolved fluorometry in immunoassays. In alternative Immunoassays, ed. W.P. Collins. John Wiley & Sons Ltd., England, pp. 203–217

[20] CLSI (2005): Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline–Second Edition; CLSI Document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[21] Westgard, J.O. et al. (1981): A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. **27**, 493–501.

[22] CLSI (2014): Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[23] CLSI (2012): Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[24] CLSI (2003): Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[25] CLSI (2013): Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Последний пересмотр: апрель 2018 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6009-0010 / 6009-001C

DELFIA® Xpress sFlt-1 kit

Флюоресцентный иммунный анализ с разрешением по времени

Инструкция по применению. Реагент для 96 (48) анализов

Изготовитель:
Wallac Oy
Mustionkatu 6, FI-20750, Turku, Finland (Финляндия)
www.perkinelmer.com
Телефон: +358 2 2678 111

ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ *IN VITRO*

CE

PerkinElmer®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОБОЗНАЧЕНИЯ

Символ	Название и справочный номер символа	Происхождение символа / название и номер стандарта	Описание
IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro* № 5.5.1	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке и на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает, что медицинское изделие является изделием для диагностики *in vitro*.
LOT	Код партии № 5.1.5	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке и на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает код партии, которым изготовитель идентифицировал партию изделия.
PN	№ упаковки	Не применимо	Не применимо
REF	Номер по каталогу № 5.1.6	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке и на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает номер медицинского изделия по каталогу изготовителя.
	Использовать до № 5.1.4	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке и на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает дату, после истечения которой изделие не должно использоваться.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Символ	Название и справочный номер символа	Происхождение символа / название и номер стандарта	Описание
	Температурные ограничения № 5.3.7	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке и на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает температурный диапазон, в пределах которого медицинское изделие надежно сохраняется.
	Добавить жидкость	Не применимо	Не применимо
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов № 5.5.5	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает общее количество тестов *in vitro*, которые могут быть выполнены с использованием реагентов, содержащихся в наборе медицинского изделия для диагностики *in vitro.*
	Обратитесь к инструкции по применению № 5.4.3	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с инструкцией по применению.
	Изготовитель № 5.1.1	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает изготовителя медицинского изделия, как это определено в Директивах Европейского союза 90/385/EEC, 93/42/EEC и 98/79/EC.
	Указанное направление должно совпадать с направлением вверх	Международная ассоциация воздушного транспорта (IATA)	Не применимо

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Символ	Название и справочный номер символа	Происхождение символа / название и номер стандарта	Описание
	Пригодно для повторного использования	RESY Organization für Wertstoffentsorgung GmbH	Не применимо

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

DELFIA® Xpress sFlt-1 kit 6009-0010/6009-001C

НАЗНАЧЕНИЕ

Этот набор предназначен для определения количества растворимой Fms-подобной тирозинкиназы-1 (sFlt-1) в сыворотке крови беременной женщины с помощью Анализатора иммунодиагностического «Делфия Экспресс» Соотношение sFlt-1/PlGF можно использовать в качестве вспомогательного средства диагностики преэклампсии, а также для краткосрочного прогноза подозрения на преэклампсию в комплексе с другими биохимическими и клиническими данными.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ АНАЛИЗА

Набор Растворимая FMS-подобная тирозинкиназа (sFlt-1 или «растворимая flit»), известный как растворимый рецептор 1-го типа фактора роста эндотелия сосудов (sVEGFR1), был впервые описан в 1993 г [1]. Растворимая Flt-1 экспрессируется в плаценте и, высвобождаясь в кровоток [2], связывается со всеми изоформами фактора роста эндотелия сосудов A (VEGF A) и плацентарного фактора роста (PlGF) [3].

Преэклампсия (ПЭ) является потенциально серьезным нарушением, развивающимся во второй половине беременности. ПЭ возникает как осложнение около 2–8% всех беременностей и является одной из причин увеличения заболеваемости и смертности матери, плода и новорожденных [7]. ПЭ характеризуется артериальной гипертензией беременных и протеинурией, которые являются основными критериями диагностики этого состояния. Клинически ПЭ может протекать с различной степенью тяжести: от легкой (поздней) формы до тяжелой (ранней), при которой возникает необходимость родоразрешения до 34 недели беременности. Хотя причины возникновения преэклампсии до конца не ясны, в ее развитии играет роль эндотелиальная дисфункция, вызванная дисбалансом ангиогенных (например, PlGF) и антиангиогенных факторов (например, sFlt-1), выделяющихся плацентой.

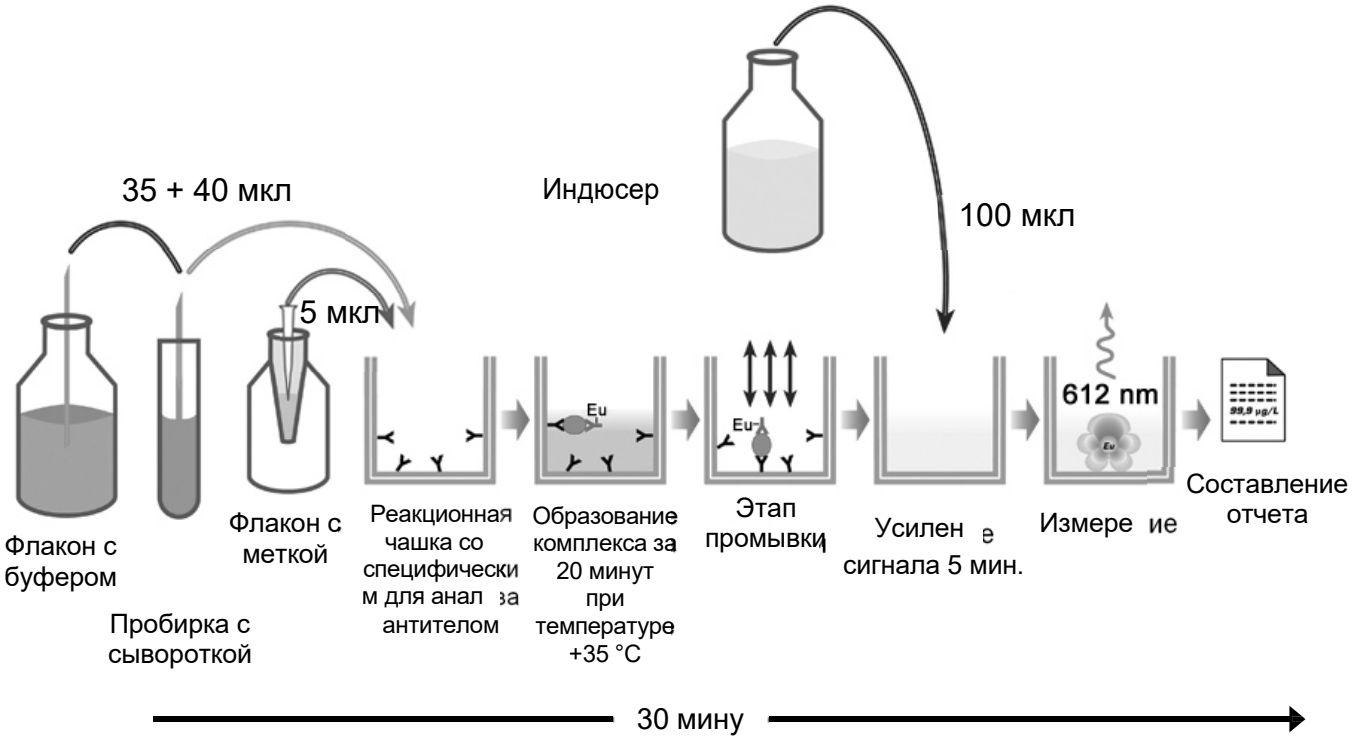
Плацентарный фактор роста (PlGF) впервые был выделен из женской плаценты в 1991 г. [4]. PlGF является ангиогенным фактором и принадлежит к семейству белков фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Активность PlGF проявляется в связывании с Flt-1. В кровотоке PlGF, главным образом, связывается с растворимой формой Flt-1, то есть sFlt-1 [5]. Экспрессия PlGF происходит главным образом в трофобластах плаценты [6], однако некоторая экспрессия наблюдается также в сердце, легких, щитовидной железе и жировой ткани. PlGF играет значительную роль во время беременности, а также при ряде патологических состояний, в том числе ишемии, заживлении ран и прогрессировании опухолей.

При нормальной неосложненной беременности уровни sFlt-1 в сыворотке крови повышаются ближе к родоразрешению [8],[10], а уровни свободного PlGF повышены во время первого и второго триместров, затем они снижаются [9],[11]. Повышенное соотношение sFlt-1/PlGF в сыворотке крови имеет диагностическое и прогностическое значение в отношении ПЭ [12],[13].

DELFIA зарегистрированная торговая марка компании PerkinElmer, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

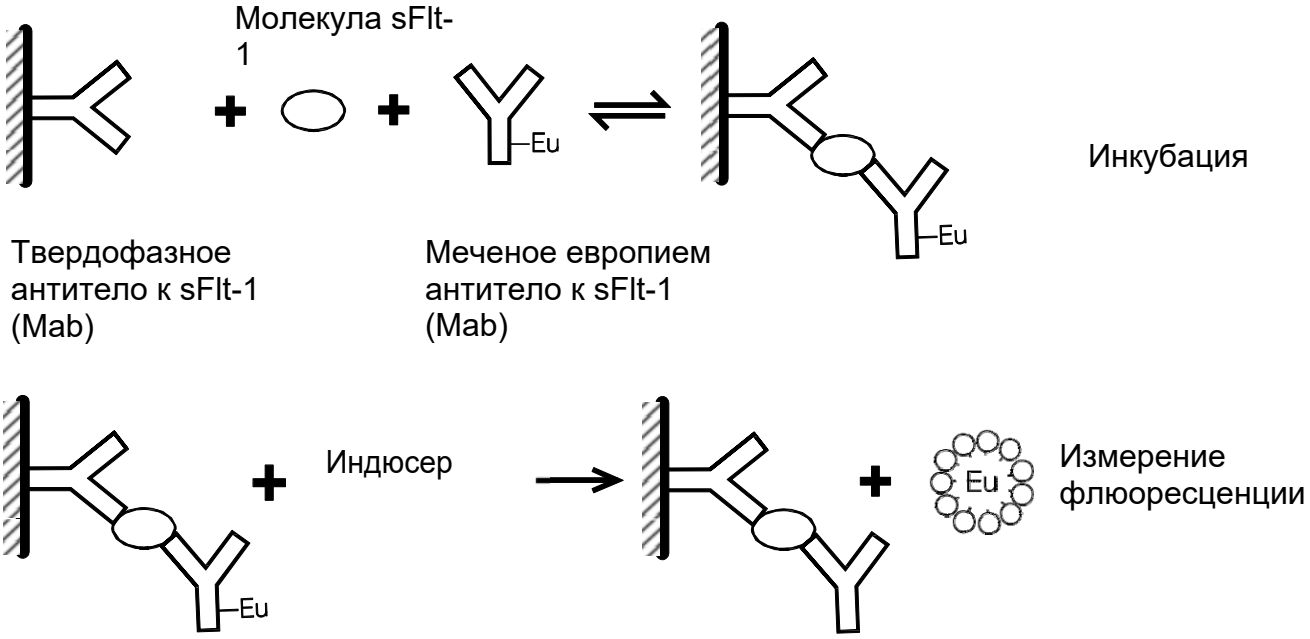
СУЩНОСТЬ АНАЛИЗА



Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C представляет собой твердофазный флюороиммунометрический двухсайтовый анализ, основанный на прямом сэндвич-методе, при котором два антитела направлены против молекулы sFlt-1. С иммобилизированными моноклональными антителами, направленными против молекул sFlt-1, взаимодействуют калибровочные стандарты и образцы сыворотки, содержащие sFlt-1. С sFlt-1, которая связана с антителами, осажденными на твердой фазе, взаимодействуют меченые европием моноклональные антитела, направленные против другой антигенной детерминанты на молекуле sFlt-1.

Индюсер диссоциирует ионы европия из меченых антител в раствор, где они образуют высокофлуоресцентные хелаты с компонентами индюсера. После этого измеряется флуоресценция в каждой лунке. Флуоресценция европия в каждом образце пропорциональна концентрации sFlt-1 в нем [14],[15],[16].

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Цифры в скобках указаны для набора с 4 пеналами с реакционными чашками.

Каждый набор Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C содержит реагенты для 96 (48) анализов.

Дата истечения срока использования полной упаковки указана на внешней этикетке. Хранить при температуре +2 – +8°C.

После вскрытия компоненты набора сохраняют стабильность, как описано в разделе «СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ ВСКРЫТОГО КОМПЛЕКТА».

Реагенты

Компонент	Количество	Условия и срок хранения
sFlt-1 Calibrators (Калибраторы sFlt-1) (приблизительные значения) A 0 пг/мл B 24 пг/мл C 120 пг/мл D 600 пг/мл E 3600 пг/мл F 19500 пг/мл	6 флаконов, (6 флаконов) лиофилизированные Точная концентрация sFlt-1 указана в сертификате контроля качества партии, имеющемся в наборе.	При температуре +2 – +8°C до даты, указанной на этикетке пробирки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Калибраторы лиофилизированы в буферном физиологическом растворе Tris-HCl (pH 7.8) с бычьим сывороточным альбумином и <0.1% азида натрия в качестве консерванта. Калибраторы откалиброваны с помощью аминокислотного анализа.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей и при проглатывании.

Калибраторы sFlt-1 содержат азид натрия (<1%).
H412 Вредно для водных организмов с длительными последствиями.
P273 Избегайте попадания в окружающую среду.
P501 Утилизация содержимого/контейнера в соответствии с требованиями местных/региональных/национальных/международных нормативных документов.

sFlt-1 Tracer (Метка sFlt-1): Меченое европием антитело к sFlt-1 (10 мкг/мл) (мышиное моноклональное антитело)	3 флакона, 0.5 мл (4 флакона, 0.5 мл)	При температуре +2 – +8°C до даты, указанной на этикетке флакона.

Готовая к использованию метка находится в буферном (Tris-HCl, pH 7.8) солевом растворе, содержащем также бычий сывороточный альбумин, противопенную добавку, поверхностно-активное вещество и < 0.1 % азида натрия в качестве консерванта.

sFlt-1 Assay Buffer (Буфер для лабораторного анализа содержания sFlt-1)	3 флакона, 3 мл (4 флакона, 3 мл)	При температуре +2–+8°C до даты, указанной на этикетке флакона.

Готовый к использованию буферный физиологический раствор Tris-HCl (pH 7.8) с бычьим сывороточным альбумином, бычьим глобулином, этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТУ), диэтилентриаминпентауксусной кислотой (ДТПУ), Tween® 20, блокаторами, инертным красным красителем и <0.1% азида натрия в качестве консерванта.

sFlt-1 Pen (Пенал с реакционными чашками для лабораторного анализа содержания sFlt-1): Каждый пенал с аналитом содержит 12 реакционных чашек с антителами sFlt-1 (антитело рекомбинантной человеческой α IgG)	8 шт. (4 шт.)	При температуре +2 – +8°C до даты, указанной на этикетке. Сразу же после вскрытия поместите пеналы с реакционными чашками в держатель пеналов.

Tween является зарегистрированной торговой маркой компании ICI.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Lot-specific quality control certificate (Сертификат контроля качества партии)	1 шт.

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

Набор Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C предназначен для использования совместно с Анализатором иммунодиагностическим «Делфия Экспресс». Для системы требуются нижеуказанные изделия, которые можно приобрести в Wallac Oy или PerkinElmer, Inc., а также у дистрибьюторов.

1. Набор для определения плацентарного фактора роста (DELFIA Xpress PIGF kit) (произв. № 6007-0040)
2. Промывочный буфер ДЕЛФИЯ
3. Индюсер
4. Наконечники полимерные одноразовые 0.2-10 мкл для медицинских пипеток (96 шт/уп)

Дополнительно потребуются следующие компоненты.

- Реагентная вода для клинических лабораторий (РВКЛ, согласно стандартам Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI)) или аналогичная деионизированная вода
- Пипетки для ресуспендирования лиофилизированных компонентов (1.4 мл)

ПРЕ-АНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА

ФАКТОРЫ, КОТОРЫЕ МОГУТ ОКАЗЫВАТЬ ВЛИЯНИЕ НА АНАЛИЗ

Образцы, в которых содержатся гетерофильные антитела, могут давать ложно завышенные результаты несмотря на то, что в буфер для лабораторного анализа содержания sFlt-1 добавлены специфические блокирующие агенты. Активация комплемента в некоторых редких случаях дает ложно низкие результаты.

Использование образцов плазмы не исследовалось.

ЗАБОР ОБРАЗЦОВ И АНАЛИТИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ

Возьмите кровь из вены, дайте ей свернуться и как можно быстрее отделите сыворотку центрифугированием.

Стабильность sFlt-1 в образцах, собранных в пробирках для сыворотки до отделения сыворотки в карусели составляет 12 часов при +27 – +33°C и 1 сутки при комнатной температуре (+19 – +25°C), если допускается изменение на 10% концентрации sFlt-1.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

sFlt-1 сохраняет стабильность в материнской сыворотке в течение 6 суток при температуре +2 – +8°C, 4 дня при комнатной температуре (+19 – +25°C) и 2 дня при +27 – +33°C, если допускается изменение на 10% концентрации sFlt-1. Для более длительного срока следует хранить образцы при температуре –30 – –16°C. Повторные циклы замерзания-оттаивания (до трех раз) не оказывают значительного влияния на концентрацию sFlt-1 в образцах материнской сыворотки.

Сыворотку собирают с помощью стандартных пробирок или пробирок, содержащих разделяющий гель. Было протестировано несколько имеющихся в продаже пробирок для сбора образцов, т.е. были протестированы не все пробирки всех производителей. Пробирки для сбора образцов от различных производителей могут содержать разные материалы, что в некоторых случаях может повлиять на результаты теста. При обработке образцов в первичных пробирках (пробирках для сбора образцов) следуйте инструкциям производителя пробирок.

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностического исследования *in vitro*.

Допускается использование этого теста только специально подготовленным персоналом.

Обращайтесь со всеми образцами крови пациентов как с потенциально инфицированными. С ними можно ознакомиться в публикации министерства здравоохранения США «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories» (Биозащита в микробиологических и биомедицинских лабораториях) или других местных или национальных нормативных документах.

Реактивы содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Азид натрия может реагировать со свинцовыми и медными трубками, образуя взрывоопасные азиды металлов. При утилизации промывайте большим объемом воды, чтобы предотвратить накопление азида.

Лиофилизированные калибраторы sFlt-1 содержат азид натрия, они вредны для водных организмов с длительными последствиями. См. конкретные меры предосторожности для комплектации набора. Порошок вреден при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании.

Промывочный буфер ДЕЛФИЯ содержит Germall® II и может вызывать аллергическую реакцию кожи. См. инструкцию по применению Промывочного буфера ДЕЛФИЯ.

Утилизация всех отходов должна проходить в соответствии с требованиями местных нормативных документов.

Germall является зарегистрированным товарным знаком компании ISP Investments, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Реагент	Стабильность после разведения
Промывочный раствор	14 дней при +2 – +25°C в герметичном контейнере.

Для получения буферного промывочного раствора (pH 7.8) влейте 40 мл промывочного буфера ДЕЛФИЯ в емкость и разбавьте в 25 раз (1:25), добавив 960 мл воды. См. инструкцию по применению Промывочного буфера ДЕЛФИЯ.

Калибраторы sFlt-1 — 7 дней при температуре +2 – +8°C.

Добавьте ровно 1.4 мл воды (РВКЛ, CLSI или эквивалентной деионизированной воды) в каждую пробирку.

Оставьте калибраторы не менее чем на 30 минут при комнатной температуре (+19 – +25°C). Осторожно перемешайте восстановленные калибраторы для предотвращения образования пены, пару раз перевернув флакон. Пена в калибраторах приводит к ошибочной оценке уровня жидкости.

Еще через 30 минут осторожно перемешайте с помощью одного из указанных далее способов (калибраторы должны стоять в общей сложности 60 минут).
— 30 минут в качалке пробирок для образцов крови, или
— ручное покачивание с осторожным переворачиванием флакона 2 x 10 раз

Храните калибраторы при +2 – +8°C (до 7 дней). Осторожно перемешайте перед использованием, перевернув 2 x 10 раз. Каждый флакон можно использовать для выполнения 3 калибровок (макс. 2 ч/калибровку в анализаторе).

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей и при проглатывании. Растворенные калибраторы содержат <0.1% азида натрия и не считаются вредными.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ ВСКРЫТОГО КОМПЛЕКТА

Компонент	Стабильность и хранение
Калибраторы sFlt-1	После ресуспендирования храните при температуре +2 – +8°C (не более 7 дней). Каждый флакон можно использовать для выполнения 3 калибровок (макс. 2 ч/калибровку в анализаторе).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Компонент	Стабильность и хранение
Метка sFlt-1	Стабильна в течение 5 дней, если штатив с флаконами с реагентами хранится в течение ночи при температуре +2 – +8°C.
Буфер для лабораторного анализа содержания sFlt-1	Стабилен в течение 5 дней, если штатив с флаконами с буферным раствором хранится в течение ночи при температуре +2 – +8°C.
Пенал с реакционными чашками sFlt-1	Стабилен в течение 14 дней в анализаторе.
Индюсер	Стабилен в течение 5 дней в анализаторе.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Для получения дополнительной информации см. руководство пользователя Анализатора иммунодиагностического «Делфия Экспресс». К моменту использования реагенты и образцы должны иметь комнатную температуру (+19 – +25°C). Образцы следует тщательно, но осторожно перемешать (см. раздел «ПРИМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ», пункт 3).

Калибровка

Для каждой новой партии реагентов должна регистрироваться полная калибровочная кривая **в двух повторах,** а затем повторяться каждые три месяца. Постановочная калибровочная кривая в двух повторах должна ставиться с использованием калибровочных стандартов C и E для каждой новой используемой серии индюсера. Контроли должны ставиться после калибровки до начала исследования образцов.

Процедура

ПРИМЕЧАНИЕ. Когда в разных партиях наборов используются одни и те же партии компонентов, перед загрузкой компонентов убедитесь, что нежелательная партия наборов инактивирована.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

а) Построение калибровки:

- ИДЕНТИФИЦИРУЙТЕ: перейдите на дисплей «Запасы/Калибровка» (Inventory/Calibration) и нажмите кнопку «Новый» (New) на панели инструментов.

Считайте вложенный, специфичный для каждой партии штрих-код при помощи портативного считывающего устройства.

- ПРОВЕРКА 1: проверьте уровень жидкости индюсера, промывочного раствора и бутылки для отходов на экране «Реестр/Объем реагентов» (Inventory/Bulk reagents).

- ПРОВЕРКА 2: проверьте уровень жидкости в промывочной бутылке.

- ОПОРОЖНИТЕ ЛОТОК ДЛЯ ОТХОДОВ

- ЗАГРУЗКА ПЕНАЛА: поместите пенал с реакционными чашками в держатель пеналов штрих-кодом внутрь анализатора.

- ЗАГРУЗКА МЕТКИ: поместите пузырек с меткой с чистым наконечником в штатив для реагентов. Убедитесь, что пузырек прочно закреплен, а штрих-код обращен наружу.

- ЗАГРУЗКА БУФЕРА: поместите пузырек с буферным раствором в штатив для буфера таким образом, чтобы штрих-код был виден через вертикальную щель.

- ЗАГРУЗКА КАЛИБРАТОРОВ: поместите флаконы с калибраторами в штатив для калибраторов. Расположите флаконы так, чтобы штрих-коды были видны через вертикальные щели штатива. Поместите штатив для калибратора в карусель и щелкните по значку «Scan» (Сканирование).

- НАЖМИТЕ НА КНОПКУ СТАРТ/ПАУЗА на анализаторе или щелкните по значку «Start» (Запуск) на рабочей панели компьютера.

- ПОЛУЧЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ: возьмите калибровочную кривую с экрана «Реестр/Калибровка/Принятие» (Inventory/Calibration/Accept). При принятии кривой пользователь также должен ответить на запрос системы о том, установлена ли эта кривая в качестве активной. Калибровочную кривую можно сделать активной. Для этого нужно выбрать неактивную кривую, нажать на значок «Activation» (Активация) на панели инструментов и на кнопку OK.

ПРИМЕЧАНИЕ. После каждого полного цикла калибровки необходимо выполнять процедуру технического обслуживания (замочить пробоотборник в промывочном растворе 1:10), как указано в еженедельном контрольном списке.
Контроли должны ставиться после калибровки до начала исследования образцов.
В промежутках между использованием калибровочные стандарты необходимо хранить охлажденными (+2 – +8°C).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

b) Исследование образца:

- ПРОВЕРКА 1: проверьте уровень жидкости индюсера, промывочного раствора и бутылки для отходов на экране «Реестр/Объем реагентов» (Inventory/Bulk reagents).

- ПРОВЕРКА 2: проверьте уровень жидкости в промывочной бутылке.

- ОПОРОЖНИТЕ ЛОТОК ДЛЯ ОТХОДОВ

- ЗАГРУЗКА ПЕНАЛА: поместите пенал с реакционными чашками в держатель пеналов штрих-кодом внутрь анализатора.

- ЗАГРУЗКА МЕТКИ: поместите флакон с меткой с чистым наконечником в штатив для реагентов. Убедитесь, что флакон прочно закреплен, а штрих-код обращен наружу.

- ЗАГРУЗКА БУФЕРА: поместите флакон с буферным раствором в штатив для буфера таким образом, чтобы штрих-код был виден через вертикальную щель.

- ВСТАВЬТЕ ПРОБИРКУ С ОБРАЗЦОМ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ: поместите пробирку с образцом в штатив. Во время использования штрих-код должен быть обращен наружу. Поместите штатив в карусельный магазин для образцов. Запустите сканирование штрих-кода и щелкните по значку «Scan» (Сканирование).

- НАЖМИТЕ НА КНОПКУ СТАРТ/ПАУЗА на анализаторе или щелкните по значку «Start» (Запуск) на рабочей панели компьютера.

- ПОЛУЧЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ: просмотрите результаты на экране и/или распечатайте результаты исследования образцов, щелкнув значок «Печать» (Print).

По окончании процедур:

Если после исследования остался раствор для других образцов, уберите штативы с реагентами и буферным раствором и храните их в течение ночи при температуре +2 – +8°C.

ПРИМЕЧАНИЕ. Растворы с меткой и буфером стабильны не более 5 дней при температуре +2 – +8°C.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Для успешного применения набора Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C необходимо тщательно изучить вкладыш настоящей упаковки, руководство пользователя Анализатора иммунодиагностического «Делфия Экспресс» и программное обеспечение Делфия Экспресс. Реагенты, входящие в данный набор, предназначены для комплексного использования. Не смешивайте идентичные реагенты из разных партий. Не используйте реагенты после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Любые отклонения от процедуры анализа могут негативно повлиять на результат.

3. Перед началом анализа серии образцов температура реагентов должна быть доведена до комнатной (+19 – +25 °C). Замороженные образцы следует медленно довести до комнатной температуры и осторожно размешать вручную, медленно перевернув пробирку с образцом как минимум 20 раз. Нельзя сильно встряхивать или смешивать образцы пациентов. Пена в образцах приводит к ошибочной оценке уровня жидкости. Как можно скорее запустите анализ из пробирки с сывороткой. ПРИМЕЧАНИЕ. Если образцы находятся в стоячем состоянии, повторите перемешивание перед загрузкой в аппарат.

   НЕ вращайте и не центрифугируйте образец сыворотки после того, как он был перемешан путем переворачивания (чтобы не образовался градиент концентрации).

4. Следует избегать загрязнения европием, поскольку оно создает высокую фоновую флуоресценцию. Замену флакона с индюсером следует проводить осторожно, не касаясь трубок.

ПОСТ-АНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор иммунодиагностический «Делфия Экспресс» включает в себя программы сжатия информации и представление результатов в виде концентраций в образцах и контролях. Для упрощения диагностики и краткосрочного прогнозирования преэклампсии рассчитывается соотношение sFlt-1/PlGF.

Контроль качества

Для гарантии точности ежедневных результатов рекомендуется использовать контрольные сыворотки. Лаборатории рекомендуется использовать имеющиеся в продаже контрольные материалы sFlt-1 (sFlt-1 Controls произв. № 3246-0010) или в качестве альтернативы готовить собственные сывороточные пулы различных уровней. Контроль высокого и низкого уровней должен выполняться каждый день и при каждой замене бутылки индюсера. Анализ качества материалов, используемых для контроля качества, проводится аналогично анализу качества образцов, взятых у пациенток.

Результаты считаются действительными только в том случае, если показатели контрольных образцов не выходят за пределы допустимых отклонений, принятых в лаборатории [17]. Если результаты такого контроля выходят за пределы нормы, рекомендуется выполнить постановочную калибровку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Интерпретация результатов, полученных в анализе с набором Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C, должна проводиться врачом с учетом анамнеза пациентки, результатов клинического исследования и других данных.

Перед использованием все калибровочные стандарты, контрольные и исследуемые образцы должны быть приведены к комнатной температуре и тщательно смешаны. Образцы не должны пениться. Дальнейшие инструкции по работе с образцом см. в разделе «ЗАБОР ОБРАЗЦОВ И АНАЛИТИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ».

Образцы, в которых содержатся гетерофильные антитела, могут давать ложно завышенные результаты несмотря на то, что в буфер для лабораторного анализа содержания sFlt-1 добавлены специфические блокирующие агенты.

Анализ образцов, содержащих гепарин, может привести к получению ложно заниженных результатов.

Использование образцов плазмы не исследовалось.

Разбавление образцов не допускается. Если значение образца превышает 24 000 пг/мл, значение 24 000 пг/мл используется для расчета соотношения sFlt-1/PlGF.

Активация комплемента в некоторых редких случаях дает ложно низкие результаты.

См. также разделы «ПРЕАНАЛИТИЧЕСКАЯ ФАЗА» и «ПРИМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ».

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ[1] И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Следует учесть, что значения медианы и пороговые значения, приведенные в этом разделе, являются ориентировочными, и каждая лаборатория должна установить свои собственные контрольные диапазоны и пороговые значения для конкретного набора.

Величины соотношения концентрации sFlt-1, PlGF и sFlt-1/PlGF в сыворотке в различные сроки беременности представлены в таблице 1-3. Эти величины приводятся только в качестве примера и не должны использоваться для принятия клинических решений. Необходимо, чтобы в каждой скрининговой лаборатории были установлены свои собственные медианы, поскольку существуют различия, обусловленные особенностями популяции, состоянием будущей матери и плода (см. также раздел «ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ»).

[1] Исследования проведены в компании Wallac Oy, Турку, Финляндия.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 1. Значения sFlt-1, определенные в ходе анализа с набором Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C

Срок беременности	Количество образцов	Концентрация sFlt-1 (пг/мл)		
		5-й процентиль	Медиана	95-й процентиль
10-14	75	255	513	1140
15-19	75	257	564	1230
20-23	61	300	617	1860
24-28	73	218	620	1940
29-33	75	290	727	2570
34-36	44	560	1480	4160
37-39	25	564	1530	5430

Таблица 2. Значения PlGF, определенные в ходе анализа с набором Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress PlGF kit)

Срок беременности	Количество образцов	Концентрация PlGF (пг/мл)		
		5-й процентиль	Медиана	95-й процентиль
10-14	75	19.1	42.3	108
15-19	75	47.9	139	381
20-23	61	106	256	550
24-28	73	167	356	914
29-33	75	62.0	214	883
34-36	44	47.3	112	658
37-39	25	39.6	94.8	377

Таблица 3. Значения соотношения sFlt-1/PlGF, определенные в ходе анализов с набором Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C и Набором для определения плацентарного фактора роста (DELFIA Xpress PlGF kit)

Срок беременности	Количество образцов	Соотношение sFlt-1/PlGF		
		5-й процентиль	Медиана	95-й процентиль
10-14	75	4.6	11.0	31.5
15-19	75	1.2	4.2	13.3
20-23	61	1.0	2.6	6.1
24-28	73	0.4	1.7	7.0
29-33	75	0.6	3.3	33.7
34-36	44	1.3	13.3	71.6
37-39	25	3.4	24.9	57.6

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Сравнение методов[2]

Было выполнено сравнение значений соотношения sFlt-1, PlGF и sFlt-1/PlGF в сыворотке, которые были измерены в ходе анализов с Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C и Набором для определения плацентарного фактора роста (DELFIA Xpress PlGF kit), с помощью имеющихся в продаже анализов sFlt-1 и PlGF. Всего был выполнен анализ 356 клинических образцов. Для Анализатора иммунодиагностического «Делфия Экспресс» диапазон концентраций sFlt-1 в образцах составил 132–9981 пг/мл, диапазон PlGF составил 8.3–2662 пг/мл, а диапазон sFlt-1/PlGF составил 0.1–453. При сравнении значений соотношения sFlt-1/PlGF в клинических образцах в области принятия клинического решения (соотношение sFlt-1/PlGF 20–200) была получена следующая корреляция.

Взвешенная регрессия Деминга y = 0.8x + 1.06, r = 0.925, n = 100

Опубликованные пороговые значения [12],[18],[19],[20] для соотношения sFlt-1/PlGF нельзя напрямую перенести на соотношения анализов с Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C и Набором для определения плацентарного фактора роста (DELFIA Xpress PlGF kit). Каждая лаборатория должна установить собственные пороговые значения для лечения женщин с подозрением на преэклампсию. Указанные пороговые значения можно использовать только в качестве руководства.

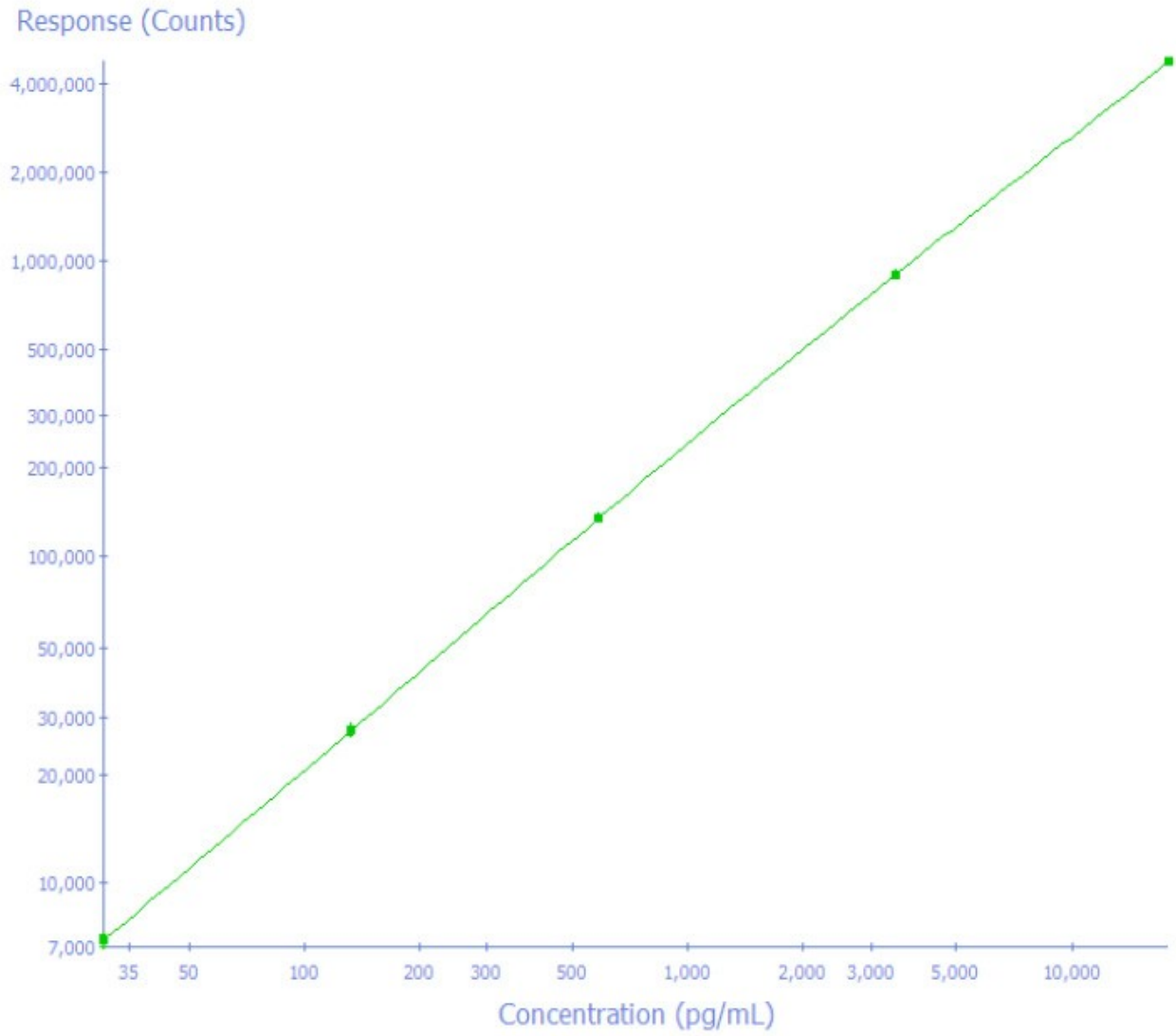
Для упрощения диагностики и краткосрочного прогнозирования преэклампсии результаты соотношения sFlt-1/PlGF можно разделить на низкие, промежуточные и повышенные с помощью пороговых значений, подтвержденных в лаборатории.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИТИЧЕСКОГО МЕТОДА[3]

Далее представлена типичная калибровочная кривая, полученная в анализе с набором Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C. Диапазон измерений набора Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 ДЕЛФИЯ (DELFIA Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C перекрывает диапазон концентраций в промежутке от 7.6 пг/мл до 24 000 пг/мл.

[2] Исследования проведены в компании Wallac Oy, Турку, Финляндия.
[3] см. выше

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Точность: точность была определена в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенными в документе EP05-A3 [21].

Анализу были подвергнуты образцы сыворотки крови (образцы 1–5 и 7), обогащенные образцы сыворотки крови (образцы 8, 9 и 11–13) и контроли 3246-0010 sFlt-1 (образцы 6 и 10) в течение 23 рабочих дней 45 раз в 4 повторах на образец с помощью наборов трех партий на трех Анализаторах иммунодиагностических «Делфия Экспресс». Для определения составляющих элементов разброса параметров данного лабораторного исследования применялся подход с использованием дисперсионного анализа (таблица 4).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 4. Результаты исследования прецизионности

Образец	N	Среднее значение sFlt-1 (пг/мл)	Разброс в пределах прогона		Разброс между партиями		Разброс в пределах партии		Общий разброс	
			СО	КВ %	СО	КВ %	СО	КВ %	СО	КВ %
1	180	9.7	0.5	5.3	1.4	14.2	0.8	7.7	1.6	16.1
2	180	21.5	1.0	4.5	1.6	7.2	1.5	6.8	2.1	9.9
3	180	75.7	1.6	2.1	0.2	0.2	4.3	5.6	4.3	5.6
4	180	219	4.0	1.8	4.2	1.9	10.6	4.8	11.4	5.2
5	180	473	6.3	1.3	13.1	2.8	19.2	4.1	23.2	4.9
6	180	788	6.7	0.8	10.0	1.3	26.9	3.4	28.7	3.6
7	180	1090	13.3	1.2	21.1	1.9	36.0	3.3	41.7	3.8
8	180	1304	11.4	0.9	12.5	1.0	34.5	2.6	36.7	2.8
9	180	3589	37.1	1.0	60.1	1.7	81.7	2.3	101	2.8
10	180	5093	54.1	1.1	63.6	1.2	108	2.1	126	2.5
11	180	6022	57.2	0.9	154	2.5	134	2.2	204	3.4
12	180	9111	79.5	0.9	283	3.1	221	2.4	359	3.9
13	180	17683	151	0.9	766	4.3	520	2.9	926	5.2

LoB, LoD и LoQ: предел холостого образца, предел обнаружения и предел количественного определения вычисляли в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенными в документе EP17-A [22].

Предел холостого образца (LoB) составляет 1.96 пг/мл при его определении как 95-го процентиля распределения «холостых» образцов (n = 300). Предел обнаружения (LoD) составляет 3.79 пг/мл (n = 360).

Предел количественного определения (LoQ) — это наименьшая концентрация sFlt-1, которая может быть измерена с воспроизводимостью результатов при общей величине прецизионности ≤18.8% (КВ). Было установлено, что она составляет 7.6 пг/мл.

Линейность: исследование линейности проводилось в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенными в документе EP06-A [23].

Показана линейная зависимость результатов в диапазоне концентраций 0.4–28900 пг/мл при максимальном наблюдаемом различии от линейности, составляющем –8.8% в пределах этого диапазона.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Специфичность анализа:

Интерферирующие вещества: исследование мешающего воздействия проводилось в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), изложенными в документе EP07-A3 [24] и EP37 [25].

В сыворотки, которые могут оказать мешающее влияние, содержащие sFlt-1 в приблизительных концентрациях 780 пг/мл или 12 600 пг/мл, добавляли нижеуказанные вещества, и было установлено, что они не оказывают мешающего воздействия в нижеуказанных концентрациях, как указано в следующей таблице 5. (Если были протестированы несколько концентраций вещества, в таблице указан максимальный протестированный уровень, не оказывающий воздействия).

Таблица 5. Результаты исследования мешающего воздействия

Номер	Тестируемое вещество	Концентрация теста или pH
1	Ацетаминофен	1030 мкмоль/л* (156 мг/л)
2	Аспирин (ацетилсалициловая кислота)	167 мкмоль/л* (30 мг/л)
3	L-аскорбиновая кислота	298 мкмоль/л* (52.5 мг/л)
4	Связанный билирубин (дитауробилирубин)	684 мкмоль/л* (577 мг/л)
5	Несвязанный билирубин (альфа билирубин)**	171 мкмоль/л* (100 мг/л)
6	Кофеин	556 мкмоль/л* (108 мг/л)
7	Этанол (этиловый спирт, безводный)	130 000 мкмоль/л* (6000 мг/л)
8	Фолиевая кислота	3 мг/л (6800 нмоль/л)
9	Гамма-глобулин (общий белок)**	38 г/л* (вместе с эндогенным белком 74 г/л добавляется до 112 г/л* общего белка в сыворотке)
10	Гентамицин	62.8 мкмоль/л* (30 мг/л)
11	Гемоглобин (из эритроцитов)**	1 г/л*
12	Гепарин (низкомолекулярный 4–6 кДа, дальтепарин натрия CRS)**	66 Ед/дл* (660 Ед/л)
13	Ибупрофен	1060 мкмоль/л* (219 мг/л)
14	pH	От 7.0 до 9.0***
15	Белок (человеческий сывороточный альбумин)	60 г/л*
16	Триглицериды (общее значение)	16.94 ммоль/л* (15 000 мг/л)

*) Единицы измерения соответствуют требованиям EP07.
**) Было определено, что эти вещества оказывают мешающее влияние при более высоких концентрациях, чем указано в таблице.
***) Диапазон тестирования шире, чем рекомендуется EP07 (рекомендуется тестировать при pH 8.0).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Хук-эффект: хук-эффект определен путем добавления в сыворотку человека рекомбинантного антигена sFlt-1. Хук-эффект при концентрациях sFlt-1 до 124 000 пг/мл не отмечался. Самая высокая протестированная концентрация была недостаточно высокой для определения критической точки.

ГАРАНТИЯ

Все представленные данные были получены в ходе описанных исследований. Любое изменение процедуры не рекомендовано производителем и может негативно повлиять на результат, в этом случае компания Wallac Oy и ее подразделения не несут гарантийных обязательств.

Компания Wallac Oy, ее подразделения и авторизованные дистрибьюторы в этом случае не несут ответственности за ущерб, прямой или косвенный.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПЕРЕЧЕНЬ ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Kendall, R.L. and Thomas, K.A. (1993): Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **90**, 10705–10709.

[2] Clark, D.E. et al. (1998): A vascular endothelial growth factor antagonist is produced by the human placenta and released into the maternal circulation. Biol. Reprod. **59**, 1540–1548.

[3] Kendall, R.L. et al. (1996): Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. Biochem Biophys Res Commun. **226**, 324-328.

[4] Maglione, D. et al. M.G. (1991): Isolation of a human placenta cDNA coding for a protein related to the vascular permeability factor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **88**, 9267–9271.

[5] Maynard, S.E. et al. (2003): Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. J. Clin. Invest. **111**, 649–658.

[6] Vuorela, P. et al. (1997): Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta. Biol. Reprod. **56**, 489–494.

[7] WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia (2011). Geneva: World Health Organization; 2011.

[8] Tsiakkas, A. et al. (2015): Serum soluble fms-like tyrosine kinase-1 in the three trimesters of pregnancy: effects of maternal characteristics and medical history. Ultrasound Obstet Gynecol **45**, 584–590.

[9] Hirashima, C. et al. (2005): Establishing Reference Values for Both Total Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase 1 and Free Placental Growth Factor in Pregnant Women. Hypertens. Res. **28**, 727–732.

[10] Thadhani, R. et al. (2004): First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. J. Clin. Endocrinol. Metab. **89**, 770–775.

[11] Levine, R.J. et al. (2004): Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. N. Engl. J. Med. **350**, 672–683.

[12] Verlohren, S. et al. (2014): New Gestational Phase–Specific Cutoff Values for the Use of the Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor Ratio as a Diagnostic Test for Preeclampsia. Hypertension **63**, 346–352.

[13] Zeisler, H. et al. (2016): Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. N Engl J Med. **374**, 13-22.

[14] Soini, E. and Kojola, H. (1983): Time-resolved fluorometer for lanthanide chelates - a new generation of nonisotopic immunoassays. Clin. Chem., **29**, 65–68.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

[15] Hemmilä, I. et al. (1984): Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays. Anal. Biochem. **137**, 335–343.

[16] Lövgren, T. et al. (1985): Time-resolved fluorometry in immunoassays. In Alternative Immunoassays. Ed. W.P. Collins. John Wiley & Sons Ltd., England, pp. 203–217.

[17] Westgard, J.O. et al. (1981): A multi-rule Shewart chart for quality control. Clin. Chem. **27**, 493–501.

[18] Verlohren, S. et al. (2012): The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. Am J Obstet Gynecol. **206**(1): 58, e1-8.

[19] Rana, S. et al. (2012): Angiogenic Factors and the Risk of Adverse Outcomes in Women with Suspected Preeclampsia Circulation. 2012 February 21; **125**(7): 911–919.

[20] Hund, M. et al. (2014): Multicenter prospective clinical study to evaluate the prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia (PROGNOSIS): study protocol BMC Pregnancy and Childbirth, **14**: 324

[21] CLSI (2014): Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Third Edition; CLSI Document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[22] CLSI (2012): Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[23] CLSI (2003): Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[24] CLSI (2018): Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline–Third Edition. CLSI document EP07-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[25] CLSI (2018): Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. First Edition. CLSI supplement EP37. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Май 2020 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3246-0010

sFlt-1 Controls kit

Проанализированный материал для контроля качества в сыворотке крови человека

Инструкция по применению.

Изготовитель:
Wallac Oy
Mustionkatu 6, FI-20750, Turku, Finland (Финляндия)
www.perkinelmer.com
Телефон: +358 2 2678 111

ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ *IN VITRO*

CE

PerkinElmer®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОБОЗНАЧЕНИЯ

Символ	Название и справочный номер символа	Происхождение символа / название и номер стандарта	Описание
	Медицинское изделие для диагностики *in vitro* № 5.5.1	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает, что медицинское изделие является изделием для диагностики *in vitro*.
	Код партии № 5.1.5	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает код партии, которым изготовитель идентифицировал партию изделия.
	Использовать до № 5.1.4	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает дату, после истечения которой изделие не должно использоваться.
	Температурные ограничения № 5.3.7	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает температурный диапазон, в пределах которого медицинское изделие надежно сохраняется.
	Добавить жидкость	Не применимо	Не применимо

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Символ	Название и справочный номер символа	Происхождение символа / название и номер стандарта	Описание
	Обратитесь к инструкции по применению № 5.4.3	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с инструкцией по применению.
	Изготовитель № 5.1.1	ISO 15223, Изделия медицинские — символы, применяемые при маркировке на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает изготовителя медицинского изделия, как это определено в Директивах Европейского союза 90/385/EEC, 93/42/EEC и 98/79/EC.
	Указанное направление должно совпадать с направлением вверх	Международная ассоциация воздушного транспорта (IATA)	Не применимо
	Пригодно для повторного использования	RESY Organization für Wertstoffentsorgung GmbH	Не применимо

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

sFlt-1Controls kit 3246-0010

ОПИСАНИЕ ИЗДЕЛИЯ И НАЗНАЧЕНИЕ

Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 контроль (sFlt Controls) 3246-0010 представляют собой лиофилизированную контрольную сыворотку человека. Они предназначены для использования в качестве проанализированного контроля качества для отслеживания точности и достоверности лабораторных процедур измерения при выполнении анализов с Набором ДЕЛФИЯ Экспресс для определения sFlt-1 (DELFIA® Xpress sFlt-1 kit) 6009-0010/6009-001C. Доступно два уровня контроля, позволяющие отслеживать эффективность в пределах клинического диапазона.

Присваивание значения было установлено в соответствии со специальными требованиями: приложение 1, директивы IVD 98/79/EC. Данное изделие не предназначено для использования в качестве калибратора.

СОДЕРЖИМОЕ УПАКОВКИ

Каждая упаковка Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 контроль (sFlt Controls) 3246-0010 содержит 5 флаконов лиофилизированного контроля НИЗКОГО уровня и 5 флаконов лиофилизированного контроля ВЫСОКОГО уровня.

Дата окончания срока годности неоткрытых флаконов указана на этикетках. Хранить при температуре +2 – +8 °C.

Реагенты

Компонент	Количество	Условия и срок хранения
sFlt-1 Control LOW (Контрольная сыворотка sFlt-1 НИЗКОГО уровня)	5 флаконов, лиофилизированные	При температуре +2 – +8°C до даты, указанной на этикетке флакона
sFlt-1 Control HIGH (Контрольная сыворотка sFlt-1 ВЫСОКОГО уровня)	5 флаконов, лиофилизированные	При температуре +2 – +8°C до даты, указанной на этикетке флакона.

DELFIA зарегистрированная торговая марка компании PerkinElmer, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контроль представляет собой человеческую сыворотку с азидом натрия (<1%) в качестве консерванта.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей и проглатывании.

Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 контроль (sFlt Controls) 3246-0010 содержат азид натрия (<1%).
H412 Вредно для водных организмов с длительными последствиями.
P273 Избегайте попадания в окружающую среду.
P501 Утилизация содержимого/контейнера в соответствии с требованиями местных/региональных/национальных/международных нормативных документов.

Lot-specific quality control certificate (Сертификат контроля качества партии)	1 шт.

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

- Реагентная вода для клинических лабораторий (РВКЛ, согласно стандартам Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI)) или аналогичная деионизированная вода
- пипетки для дозирования деионизированной воды, необходимой для ресуспендирования лиофилизированных компонентов

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностического исследования *in vitro*.

Допускается использование этих контролей только специально подготовленным персоналом.

Это изделие произведено из компонентов человеческой крови. Исходные материалы были протестированы, поверхностный антиген гепатита B, антитела к гепатиту C и антитела к ВИЧ 1 и 2 отсутствуют. Тем не менее, должны соблюдаться все необходимые меры предосторожности при работе с продуктами переработки крови. С ними можно ознакомиться в публикации министерства здравоохранения США «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories» (Биозащита в микробиологических и биомедицинских лабораториях) или других местных или национальных нормативных документах.

Избегайте бактериального заражения. Повышенная замутненность может указывать на рост бактерий.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лиофилизированные контроли sFlt-1 содержат азид натрия, они вредны для водных организмов с длительными последствиями. См. конкретные меры предосторожности в наборе. Порошок вреден при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании.

Азид натрия может реагировать со свинцовыми и медными трубками, образуя взрывоопасные азиды металлов. При утилизации промывайте большим объемом воды, чтобы предотвратить накопление азида.

Утилизация всех отходов должна проходить в соответствии с требованиями местных нормативных документов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Реагент	Стабильность после разведения
Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 контроль (sFlt Controls) 3246-001	5 дней при +2 – +8°C или 30 дней при –30 – –16°C. 5 часов в Анализаторе иммунодиагностическом "Делфия Экспресс".

Добавьте ровно 1.5 мл воды (РВКЛ, CLSI или аналогичную деионизированную воду) в каждый флакон.

Дайте контролям постоять не менее 30 минут при комнатной температуре (+19 – +25°C). Осторожно перемешайте восстановленные контроли для предотвращения образования пены, пару раз перевернув флакон. Пена в контролях приводит к ошибочной оценке уровня жидкости.

Еще через 30 минут осторожно перемешайте с помощью одного из указанных далее способов (контроли должны стоять в общей сложности 60 минут).
— 30 минут в качалке пробирок для образцов крови, или
— ручное покачивание с осторожным переворачиванием флакона 2 x 10 раз

Разделите содержимое каждого восстановленного флакона на аликвоты. Храните аликвоты при +2 – +8°C (до 5 дней) или при –30 – –16°C (до 30 дней). Осторожно перемешайте перед использованием. После того как аликвота контроля будет взята для использования, ее следует использовать в тот же день. Выбросьте использованную аликвоту контроля после последнего цикла дня.

ПРИМЕЧАНИЕ. Порошок содержит в качестве консерванта азид натрия (<1%), который представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей и при проглатывании. Растворенный контроль содержит <0.1% и потому не считается вредным.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И СРЕДНИЕ АНАЛИТИЧЕСКИЕ ЗНАЧЕНИЯ ДЛЯ НАБОРА

Средние аналитические значения для каждого набора указаны в сертификате контроля качества, который прилагается к набору.

Аналитические значения следует рассматривать в качестве инструкций, а не как справочные значения. Настоятельно рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала свои собственные контрольные значения и диапазоны аналитических значений на основе характеристик и отслеживаемости собственного способа работы.

Установленное среднее значение должно быть в пределах ±25% стандартных отклонений значений, указанных в сертификате контроля качества.

ГАРАНТИЯ

Любое изменение процедуры не рекомендовано производителем и может негативно повлиять на результат, в этом случае компания Wallac Oy и ее подразделения не несут гарантийных обязательств.

Компания Wallac Oy, ее подразделения и авторизованные дистрибьюторы в этом случае не несут ответственности за ущерб, прямой или косвенный.

Май 2020 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3241-0010 (384 реакции, 1 x 384 реакции)
3242-0010 (1152 реакции, 3 x 384 реакции)

Eonis™ SCID-SMA kit

Мультиплексный анализ полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Инструкция по применению.

Производитель:
Wallac Oy (Валлак Ой),
Mustionkatu 6, FI-20750 Турку, Финляндия
www.perkinelmer.com

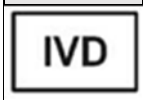
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

CE

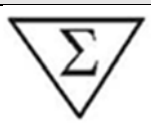
PerkinElmer®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СИМВОЛЫ

Символ	Название символа и номер артикула	Источник символа / название стандарта и номер	Описание
	Диагностическое медицинское изделие для применения *in vitro* № 5.5.1	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает, что медицинское изделие является изделием для диагностики, которое используется *in vitro*.
	Код партии № 5.1.5	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает код партии, которым изготовитель идентифицировал партию изделия.
	Количество упаковок	Не применимо	Не применимо
	Номер по каталогу № 5.1.6	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает номер медицинского изделия по каталогу изготовителя
	Использовать до... № 5.1.4	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает дату, после истечения которой изделие не должно использоваться.
	Температурный диапазон № 5.3.7	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает температурный диапазон, в пределах которого медицинское изделие надежно хранится.
	Не допускать воздействия солнечного света № 5.3.2	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает, что медицинское изделие необходимо защищать от воздействия солнечного света.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Символ	Название символа и номер артикула	Источник символа / название стандарта и номер	Описание
	Содержимого достаточно для провидения n-количества тестов № 5.5.5	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывается общее количество тестов in vitro, которые могут быть выполнены с использование реагентов, содержащихся в наборе медицинского изделия для диагностики in vitro.
	Обратитесь к инструкции по применению № 5.4.3	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с инструкцией по применению.
	Изготовитель № 5.1.1	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает изготовителя медицинского изделия, как это определено в директивах Европейского Сообщества 90/385/EEC, 93/42 / EEC и 98/79/EC.
	Верх	IATA (Международная ассоциация воздушного транспорта)	Не применимо
	Подлежит вторичной переработке	RESY Организация По переработке ГмбХ (Organization für Wertstoffentsorgung GmbH)	Не применимо

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Eonis™ SCID-SMA kit

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Eonis™ SCID-SMA предназначен для полуколичественного определения TREC (Т-рецепторные эксцизионные кольца) и KREC (рекомбинационные кольца каппа-делеционного элемента), а также для качественного определения экзона 7 гена *SMN1* и гена *RPP30* (рибонуклеаза P / MRP субъединица P30) в ДНК из образцов крови, высушенных на фильтровальной бумаге. Используется в качестве вспомогательного средства при скрининге новорожденных на тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID), Х-сцепленную агаммаглобулинемию (XLA) и спинальную мышечную атрофию (CMA).

Этот тест не предназначен для диагностики или скрининга SCID-подобных синдромов, таких как синдром Ди Георге или синдром Оменна. Он также не предназначен для скрининга менее острых синдромов SCID, таких как атипичный SCID или вариативный SCID, атипичные носители XLA и XLA, и CMA, который не несет гомозиготную делецию экзона 7 *SMN1*.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

Тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID)

SCID — это группа редких, но серьезных и потенциально смертельных наследственных иммунных нарушений, при которых Т-лимфоциты не развиваются, а В-лимфоциты либо отсутствуют, либо повреждены. Нарушение как В-, так и Т-клеток приводит к термину "комбинированный”. У пациентов, которые не получают лечение, развиваются опасные для жизни инфекции, вызванные бактериями, вирусами и грибками. Скрининговый тест на Т-рецепторные эксцизионные кольца (TREC), побочный продукт нормального развития Т-клеток, выявляет типичный SCID [1].

Как правило, младенцы со SCID умирают из-за инфекции в течение первого года жизни, если иммунная система ребенка не будет восстановлена соответствующим лечением [2]. Определяющей характеристикой SCID всегда является серьезная недостаточность производства Т-клеток и их функционирования, с дефектами В-лимфоцитов (как первичная или вторичная проблема), а также некоторые генетические типы, образование естественных клеток-киллеров (NK) [3], [4], [5]. Распространённость SCID составляет примерно 1 на 50000 новорожденных.

При медицинском осмотре новорожденные обычно не проявляют физических отклонений до начала развития инфекции. Патофизиология и молекулярная биология отличаются у различных форм SCID, однако дисфункция Т-клеток и В-клеток является общей чертой для всех форм. Лимфопения обычно возникает из-за отсутствия Т-клеток, а иногда и из-за отсутствия NK-клеток. Количество функциональных антител снижено или они вовсе отсутствуют. Инфекции обычно носят серьезный характер и могут включать пневмонию, менингит или инфекции кровотока со средним возрастом проявления симптомов в восемь недель. Инфекции лечатся специфическими антибиотиками, противогрибковыми и противовирусными средствами и внутривенным введением иммуноглобулина. Необходимо восстановление функциональной иммунной системы. Наиболее распространенным методом лечения является трансплантация костного мозга / стволовых клеток. Раннее выявление и лечение могут привести к заметному улучшению показателей выживаемости[6],[7],[8]. При SCID аденозиндезаминазной недостаточности доступна заместительная ферментная терапия, а также генная терапия, хотя она все еще находится в экспериментальной фазе [9], [10].

Eonis является торговой маркой компании PerkinElmer, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

TREC – это стабильные кольцевые участки ДНК, образующиеся при перестройке Т-клеточных рецепторов (Рис.1) [11]. У здоровых новорожденных TREC производятся в большом количестве, в то время как у новорожденных с SCID TREC едва обнаруживаются. Измерение может быть произведено на засохших пятнах крови, собранных рутинным методом у новорожденных. После амплификации ДНК число копий TREC в крови можно использовать для отличия новорожденных с Т-клеточной лимфопенией со SCID от здоровых новорожденных. В дополнение к аномально низкой концентрации TREC, некоторые пациенты со SCID также имеют аномально низкую концентрацию KREC из-за дефицита В-лимфоцитов [12]. Необходимо провести подтверждающее испытание для диагностики SCID и определения его формы. [13], [14] Собранная информация по скринингу SCID находится в руководстве CLSI по SCID [15].

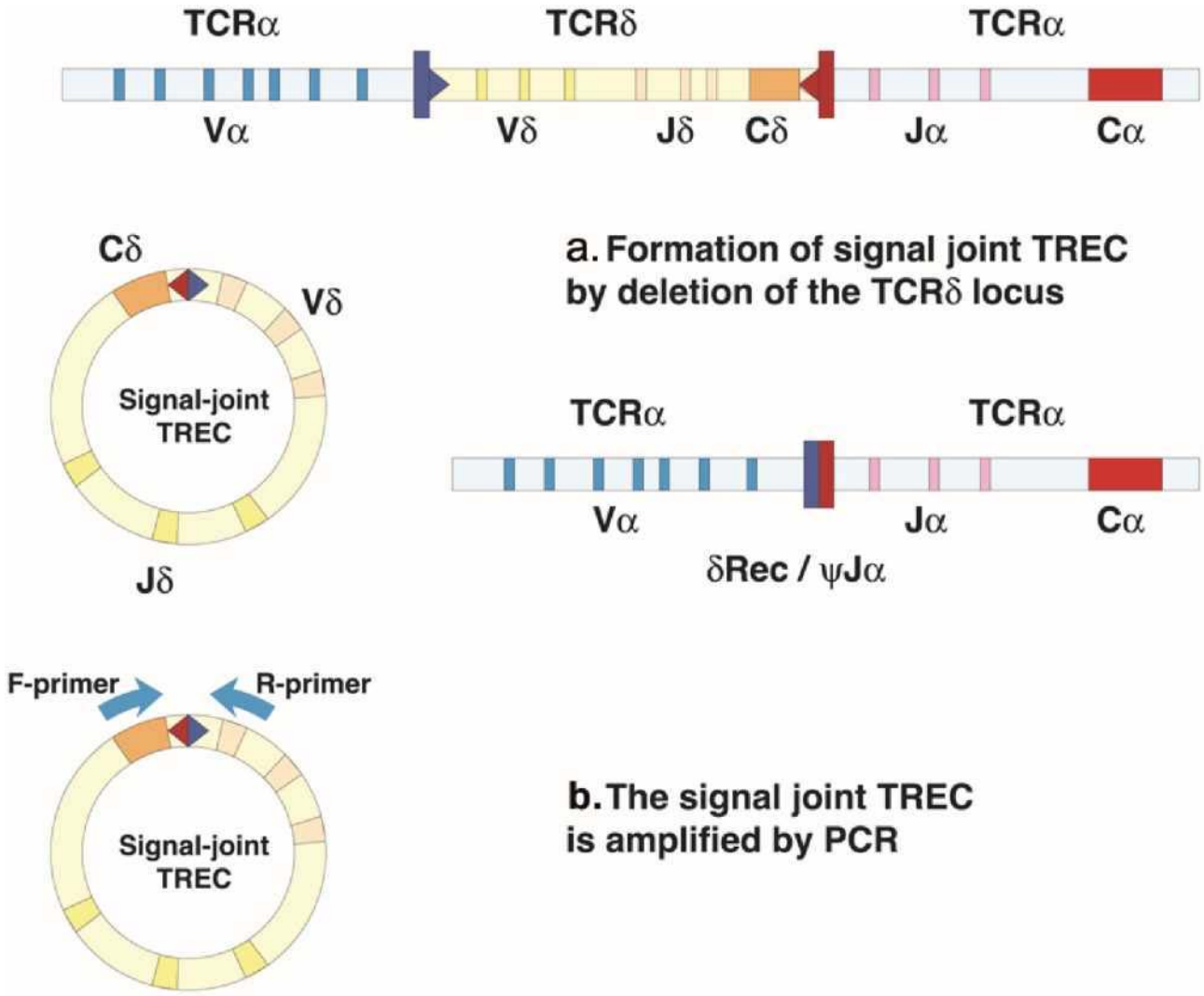


Рис. 1. (a) TREC — это кольцевые участки ДНК. Хромосома 14 (14q11-2) содержит гены, ответственные за кодирование альфа- и дельта-рецепторов Т-клеток. После перестройки дельта-локуса Т-клеточного рецептора дельта-ДНК Т-клеточного рецептора вырезается, что приводит к образованию кодирующего соединения δREC-ψJα в геноме и сигнального соединения δREC-ψJα в продукте кольцевого вырезания, который называется TREC. (b) Концентрацию TREC можно измерить с помощью ПЦР-амплификации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

X-сцепленная агаммаглобулинемия (XLA)

XLA — это наследственная форма первичного иммунодефицита и наиболее распространенный иммунодефицит, связанный с B-клетками. Он обычно вызывается мутацией или делецией в гене *BTK*, которая препятствует нормальному развитию B-лимфоцитов, что приводит к тяжелому дефициту антител. Мутировавший ген расположен в X-хромосоме, поэтому данное заболевание поражает только мальчиков. Поскольку у пациентов с XLA отсутствуют антитела, они склонны к развитию инфекций, которые часто возникают на поверхности слизистых оболочек или вблизи них, таких как среднее ухо, носовые пазухи и легкие, но в некоторых случаях могут также поражать кровоток или внутренние органы. Ранняя диагностика пациентов с XLA необходима, поскольку частота хронических заболеваний легких у этих пациентов является результатом несвоевременной диагностики и является одним из наиболее неблагоприятных факторов, влияющих на прогнозирование и качество жизни. Большинство пациентов, регулярно принимающих иммуноглобулин или профилактические антибиотики, могут вести относительно нормальную жизнь. [16],[17]

Диагноз XLA обычно рекомендуется ставить любому ребенку с рецидивирующими или тяжелыми бактериальными инфекциями, особенно если у пациента маленькие миндалины и лимфатические узлы или они вовсе отсутствуют. Во-первых, может быть проведена оценка сывороточных иммуноглобулинов. У большинства пациентов с XLA концентрация всех иммуноглобулинов (IgG, IgM и IgA) заметно снижена или они отсутствуют, за некоторыми исключениями. Если уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови низкий или врач предполагает диагноз XLA, количество B-клеток в периферической крови может быть измерено с помощью проточной цитометрии. Низкий процент в-клеток (почти отсутствует) в крови является наиболее характерным и достоверным лабораторным показателем у пациентов с XLA или аутосомно-рецессивной агаммаглобулинемией (ARA). Диагноз XLA может быть подтвержден исследованием отсутствия белка BTK в моноцитах или тромбоцитах или обнаружением мутации в гене *BTK*. Распространенность XLA составляет примерно 1 на 200 000 новорожденных и не имеет этнической предрасположенности [18].

Рекомбинационные кольца каппа-делеционного элемента (KREC) — это внехромосомные кольцевые участки ДНК, образующиеся в B-клетках во время их созревания в костном мозге. Они сохраняются в клетках, не могут реплицироваться и разбавляются в результате клеточного деления, поэтому рассматриваются как маркер выхода новых B-лимфоцитов. Количественная оценка KREC, которая может быть точно выполнена с помощью ПЦР в режиме реального времени, дает новую информацию о лечении заболеваний, связанных с устойчивостью B-клеток, и рассматривается как эффективный маркер для скрининга XLA у новорожденных [19], [20].

Спинальная мышечная атрофия (CMA)

CMA - одно из наиболее распространенных летальных рецессивных наследственных заболеваний. Это заболевание связано со значительной двигательной и респираторной недостаточностью и нарушением питания, а также смертью в младенчестве или детстве более чем 50% болеющих детей. Наиболее распространенная форма CMA (хромосома 5 CMA) вызвана дефицитом белка моторного нейрона, называемого белком выживания моторных нейронов (SMN). Дефицит SMN вызван мутациями в гене на хромосоме 5, известной как *SMN1*. Примерно 95% -98% всех типов пациентов с CMA имеют гомозиготную делецию экзона 7 *SMN1*, а 2-5% пациентов могут иметь сложную гетерозиготную делецию экзона 7 и локальную мутацию. Гены *SMN1* и *SMN2*, содержащие девять экзонов с 99%-ной идентичностью нуклеотидов, расположены в тандеме на каждой хромосоме, кодирующей РНК-связывающий белок 294 аминокислот. Кодирующая последовательность *SMN2* отличается от последовательности *SMN1* одним нуклеотидом (840 C>T) и приводит к альтернативному сплайсингу экзона 7. Благодаря альтернативному сплайсингу экзона 7 гены *SMN2* продуцируют

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

уменьшенное количество первичных транскриптов и переменное количество мРНК, лишенной экзона 7, что приводит к процессированному и нестабильному белку, тогда как *SMN1* продуцирует первичные транскрипты. Полноразмерный продукт *SMN1* необходим для функционирования нижнего мотонейрона, а уменьшение*SMN1* способствует патогенезу СМА, в то время как число копий *SMN2* изменяет тяжесть фенотипа. [21],[22]

СМА часто разделяется на 4 типа в зависимости от возраста, в котором заболевание начало развиваться, симптомов и скорости прогрессирования, как показано в таблице 1 ниже. Дети, у которых симптомы проявились при рождении или в младенчестве, как правило, имеют самый низкий уровень функционированияSMN (тип 1). Типы 2 и 3 СМА обычно проявляются у детей. Пациенты с СМА 4-го типа, как правило, имеют все более высокие уровни функции SMN. Новорожденные в настоящее время не проходят глобальный скрининг на СМА, если только родители не знают, что они носители СМА, или если новорожденный демонстрирует значительную мышечную слабость или затрудненное дыхание, или проблемы при кормлении сразу после рождения. Диагноз обычно ставится только после исключения других заболеваний, имеющих сходные симптомы, с помощью других тестов, таких как электромиограмма, биопсия мышечной ткани и т. д. Подтверждением диагноза в таком случае, как правило, является анализ крови на ген *SMN1*. В том случае, если ген *SMN1* отсутствует или имеет мутации, диагноз СМА подтверждается [22], [23].

Таблица 1. Классификация СМА

Тип СМА	Возраст начала	Тяжесть	Исход
Детство I	<6 месяцев	Тяжелая степень: генерализованная слабость и гипотония; неспособность сидеть	Пациенты обычно умирают от дыхательной недостаточности в возрасте до 2 лет
II	7-18 месяцев	Промежуточный уровень: пациенты, как правило, способны сидеть, но не стоять	Выживаемость после 4 лет до взрослого возраста в зависимости от степени дыхательной недостаточности
III	>18 месяцев	Легкая степень: пациенты обычно могут стоять и ходить	Нормальная продолжительность жизни
Начало во взрослом возрасте IV	>20 лет	Очень легкая степень: пациенты имеют двигательные нарушения без респираторных или желудочно-кишечных растройств	Нормальная продолжительность жизни

Распространенность СМА составляет примерно 1 на 10 000 новорожденных [21]. Существуют одобренные FDA методы лечения СМА. Для всех видов лечения ранняя диагностика и предсимптоматическое лечение, как правило, дает наилучший результат для пациентов, подчеркивая преимущества скрининга новорожденных.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Набор Eonis SCID-SMA kit представляет собой мультиплексный ПЦР-анализ в режиме реального времени. В нем используются мишень-специфические последовательности праймеров и зонды TaqMan™ для амплификации и обнаружения четырех мишеней: TREC, KREC, Экзон 7 *SMN1* и RPP30 в ДНК, извлеченной из пятна высушенной крови новорожденного (DBS) с помощью набора для экстракции ДНК Eonis (Eonis DNA Extraction kit) (3240-0010) в одной ПЦР-реакции. Каждый зонд TaqMan™ имеет уникальный краситель, связанный с их 5'-концевой областью, что позволяет одновременно обнаруживать четыре мишени, если они присутствуют. Количество каждой мишени, присутствующей в ДНК, определяется интенсивностью флуоресценции, испускаемой каждым красителем, высвобождаемым из распадающегося зонда во время амплификации, и который обнаруживается прибором Quantstudio™ Dx Real-Time PCR. Прибор измеряет сигналы флуоресценции и преобразует их в сравнительные количественные показания, которые выражаются в виде функции пороговых значений цикла (Ct). RPP30 используется в качестве внутреннего контроля амплификации для определения качества / количества ДНК и для полуколичественного определения TREC и KREC (копии / 10^5 клеток) с использованием TREC ΔCt и kReC ΔCt.

СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ НАБОРА

Цифры в квадратных скобках [] относятся к набору, рассчитанному на 1152 реакции.

Каждый набор EONIS SCID-SMA включает реагенты для 384 реакций [1152 реакции], включая контрольные наборы.

Комплект должен храниться при температуре -30 — -16°C. Срок годности закрытого набора указан на внешней этикетке. Не используйте компоненты после истечения срока годности.
Примечание: всегда используйте компоненты из одной партии набора.

Реагенты

Компонент	Количество	Срок годности и хранение
Контроли набора SCID-SMA	2 [4] кассеты фильтровальной бумаги, содержащие 4 [8] наборов пятен засохшей крови	Хранить в замороженном состоянии и беречь от влаги и света в оригинальной упаковке. Закрытые контроли стабильны при температуре от -30 до -16°C до истечения срока годности, указанного на этикетке пакета. После вскрытия контрольный набор сохраняет стабильность в течение 14 дней при хранении в оригинальной упаковке, помещенной в герметичный пластиковый пакет с осушителем при температуре от -30 до -16°C
C1 отрицательный контроль на аналит (TREC/KREC/SMN1) C2 Низкий уровень TREC/KREC и контроль SMN1 нормального уровня C3 Высокий уровень TREC/KREC и контроль SMN1 нормального уровня		

TaqMan является торговой маркой компании Roche Molecular Systems, Inc.
QuantStudio является торговой маркой Thermo Fisher Scientific.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контроли приготовлены из цельной крови человека со значением гематокрита 48-55 % и содержат очищенную ДНК из молок лососёвых, а также синтетическую плазмидную ДНК TREC, KREC, SMN1 и RPP30. Планшет с выбитыми контролями может храниться при температуре от +19°C до +25°C до 4 часов.

ПЦР-реагент 1	1 флакон, 2,7 мл [3 флакона, 2,7 мл]	от -30до -16°C до истечения срока

Готовый к применению буферный раствор Трис-ЭДТА (pH 8) с немечеными олигонуклеотидами, мечеными олигонуклеотидами и ProClin™ 950 в качестве консерванта.

Примечание: реагент светочувствителен. Сведите к минимуму воздействие света. Циклы замораживания/разморозки могут привести к распаду олигосахаридов. Хранить при температуре от +2 до +8°C после первого размораживания.

ПЦР-реагент 2	1 флакон, 2,7 мл [3 флакона, 2,7 мл]	от -30до -16°C до истечения срока

Готовый к применению Трис-HCl буферный раствор (pH 8) с очищенной ДНК из молок лососёвых, ПЦР-ферментами, урацил-N-Гликозилазой, нуклеотидами, ЭДТА, глицерином, Tween® 20, бычьим сывороточным альбумином, KCl, MgCl2, крезоловым красным, пеногасителем B и ProClin™ 950 в качестве консерванта.

Примечание: реагент светочувствителен. Сведите к минимуму воздействие света. Циклы замораживания/разморозки могут привести к распаду ПЦР-ферментов. Хранить при температуре от +2 до +8°C после первого размораживания.

Сертификат контроля качества на партию	1 шт.

ProClin является торговой маркой Dow Chemical Company (Dow) или дочерней компании Dow.
Tween является зарегистрированной торговой маркой компании Croda Americas LLC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ В НАБОРЕ

Выделенные жирным шрифтом товары можно приобрести у Wallac Oy, PerkinElmer, Inc. и ее дистрибьюторов.

Товар	Количество товара	Примечание
Инструмент QuantStudio™ Dx Real-Time PCR	2031-0010 или 2031-0020	Настроенный должным образом для работы комплект Eonis SCID-SMA kit
96-луночный ПЦР-планшет	4174-0010	Для 96-луночной ПЦР в режиме реального времени
384-луночный ПЦР-планшет	4158-0010	Для 384-луночной ПЦР в режиме реального времени
Прозрачная уплотнительная пленка для ПЦР-планшета	4159-0010	-
Оборудование для работы с жидкостями	**Прибор для экстракции JANUS® Extraction (арт. № CLS150056) Или прибор для извлечения JANUS® Extraction Mini (арт. № CLS153416)**	Соответствующие ручные пипетки или аналоги, оснащенные необходимыми принадлежностями и расходными материалами, которые способны переносить и распределять 3 мкл или более в 384-луночный или 96-луночный ПЦР-планшет с достаточной точностью и прецизионностью (CV% ≤ 10%), например, **прибор для экстракции JANUS Extraction (арт. № CLS150056) или** прибор для извлечения **JANUS Extraction Mini (арт. № CLS153416).**
	ПриборJANUS PCR Mastermix (арт. № CLS150057)	Соответствующие ручные пипетки или аналоги, которые способны переносить и распределять 12 мкл или более в 384-луночный или 96-луночный ПЦР-планшет с достаточной точностью и прецизионностью (CV% < 10%), например прибор **JANUS PCR Mastermix (арт. № CLS150057).**
Центрифуга(и)	-	Способна центрифугировать **96-луночный ПЦР-планшет (арт. № 4174-0010) или 384-луночный ПЦР-планшет (арт. № 4158-0010) при** 350 x g или более в течение 5 минут.
Вихревая мешалка(си)	-	Способна вращать планшеты и пробирки/флаконы
Программное обеспечение Eonis Analysis	**5020-1000**	-

JANUS является зарегистрированной торговой маркой компании PerkinElmer, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Кроме того, для автоматизированного процесса требуются следующие расходные материалы:

Для автоматизированной работы **на приборах JANUS Extraction (арт. № CLS150056), JANUS PCR Mastermix (арт. № CLS150057) и JANUS Extraction Mini (арт. № CLS153416)**

Товар	Количество товара	Примечание
Фильтрующий наконечник, 900 мкл, Проводящий, Предварительно стерилизованный	**6001256**	Используется в комплекте с прибором JANUS PCR Mastermix
RoboRack 175 мкл Проводящие фильтрующие наконечники, предварительно стерилизованные	**6000687**	Используется в комплекте с прибором JANUS PCR Mastermix
RoboRack P235 Нестерильные наконечники, прозрачные, с аэрозольным барьером	**6001288**	Используется с приборами JANUS Extraction и JANUS Extraction Mini
Лоток, 60 мл	**CLS151508**	Используется с приборами JANUS Extraction и JANUS PCR Mastermix
Полипропиленовый резервуар, V-образное дно	**6008730**	Используется с прибором JANUS Extraction Mini
70% - ный раствор этанола	-	Для технического обслуживания
Дистиллированная вода или ее эквивалент. **Примечание**: не используйте деионизированную (DI) воду, которая разъедает нержавеющую сталь и сокращает срок службы наконечника для отбора проб	-	Для технического обслуживания

Примечание: Если используются другие автоматизированные устройства для работы с жидкостями, проконсультируйтесь с производителем относительно соответствующих расходных материалов и технического обслуживания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для ручного использования

Товар	Количество товара	Примечание
Резервуар для реагентов VWR®	613-1174	Или пробирки для микроцентрифуги Eppendorf® LoBind или их эквивалент
НАКОНЕЧНИКИ ДЛЯ ПИПЕТОК С НИЗКИМ УДЕРЖАНИЕМ ART™ 1000 МКЛ SOFTFIT	2770-05-HR	Или эквивалент
Наконечники для пипеток с низким удержанием ART™ 200 **мкл** SoftFit	2769-05-HR	Или эквивалент
Наконечники для пипеток с низким удержанием ART™ 20 **мкл** SoftFit	2749-05-HR	Или эквивалент

СБОР И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Набор Eonis SCID-SMA kit предназначен для использования ДНК, извлеченной из DBS новорожденных с помощью набора Eonis DNA Extraction kit (3240-0010). Следуйте инструкциям на вкладыше из набора Eonis DNA Extraction kit (3240-0010) для сбора и обработки образцов, а также методики экстракции ДНК. С контролями C1, C2 и C3 набора Eonis SCID-SMA kit следует обращаться так же, как с образцами DBS пациента, как указано во вкладыше набора Eonis DNA Extraction kit (3240-0010).

Условиям хранения и транспортировки образцов высушенных пятен крови (DBS) следует уделять дополнительное внимание, даже несмотря на то, что ДНК в образцах DBS, как правило, стабильна и пригодна для ПЦР-анализа в течение не менее 1 месяца при условии хранения образцов при комнатной температуре (от+19 до +25°C) [24],[25],[26]. Для длительного хранения (до ~20 лет) образцы следует помещать в полиэтиленовые пакеты вместе с осушителем и хранить при температуре от -30 до -16°C [15],[25],[27],[28],[29],[30].

Влияние времени хранения, температуры и влажности изучали на образцах сухих пятен крови. Образцы готовили путем смешивания SMN1-отрицательных клеток и концентрата эритроцитов (имитируя истинно положительный образец для всех 3 условий) или с использованием пуповинной крови (имитируя истинно отрицательный образец). После сбора и подготовки пятна крови высушивали в течение ночи при комнатной температуре (+19-+25°C). Затем засохшие пятна крови хранили при различных условиях хранения. Хранение образцов при повышенных температуре и влажности увеличивает риск получить результаты с повышенными концентрациями TREC/KREC. Результаты TREC/KREC показаны на рисунках 2, 3, 4 и 5. Для SMN1 все результаты в повторениях аналит-отрицательного образца (имитирующей истинно положительный образец) были выше порогового значения, а все результаты в повторениях пуповинной крови (имитирующей истинно отрицательный образец) были ниже порогового значения, как и ожидалось.

VWR является зарегистрированной торговой маркой компании VWR International, LLC.
Eppendorf является зарегистрированной торговой маркой компании Eppendorf, AG.
ART является торговой маркой Thermo Fisher Scientific.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

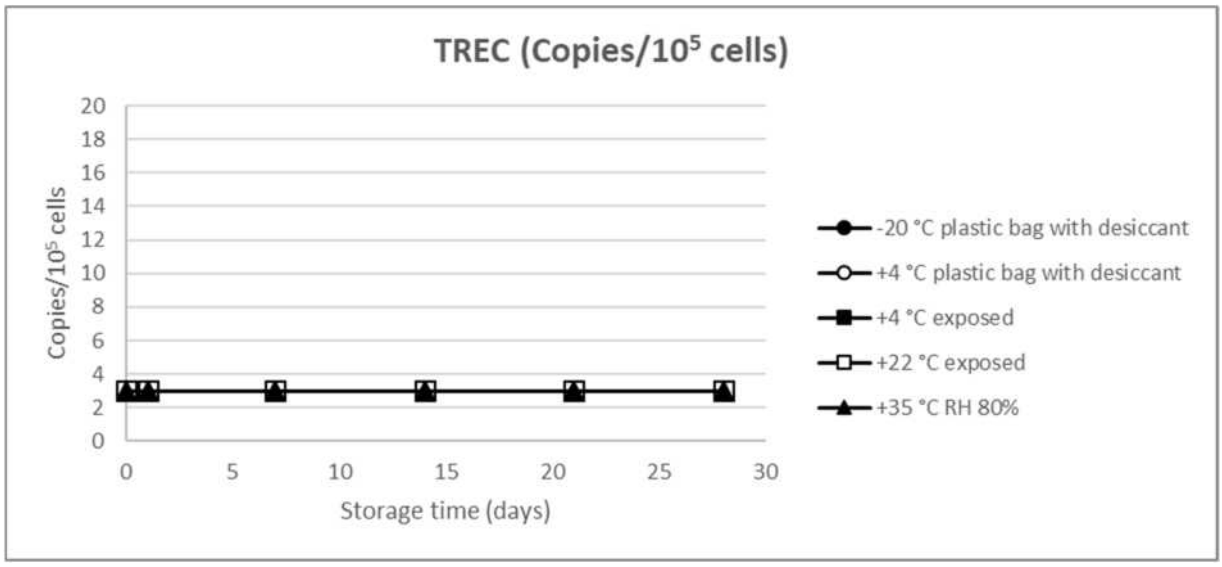


Рисунок 2. Копии TREC в образце, имитирующем истинно положительный результат, в различных условиях хранения.

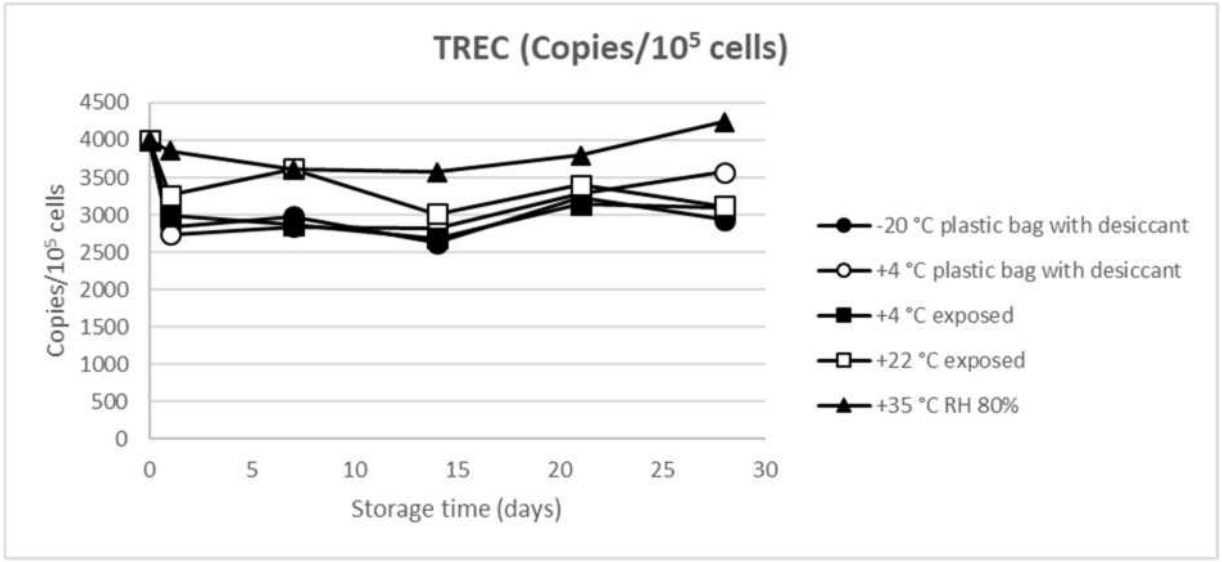


Рисунок 3. Копии TREC в образце пуповинной крови при различных условиях хранения.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

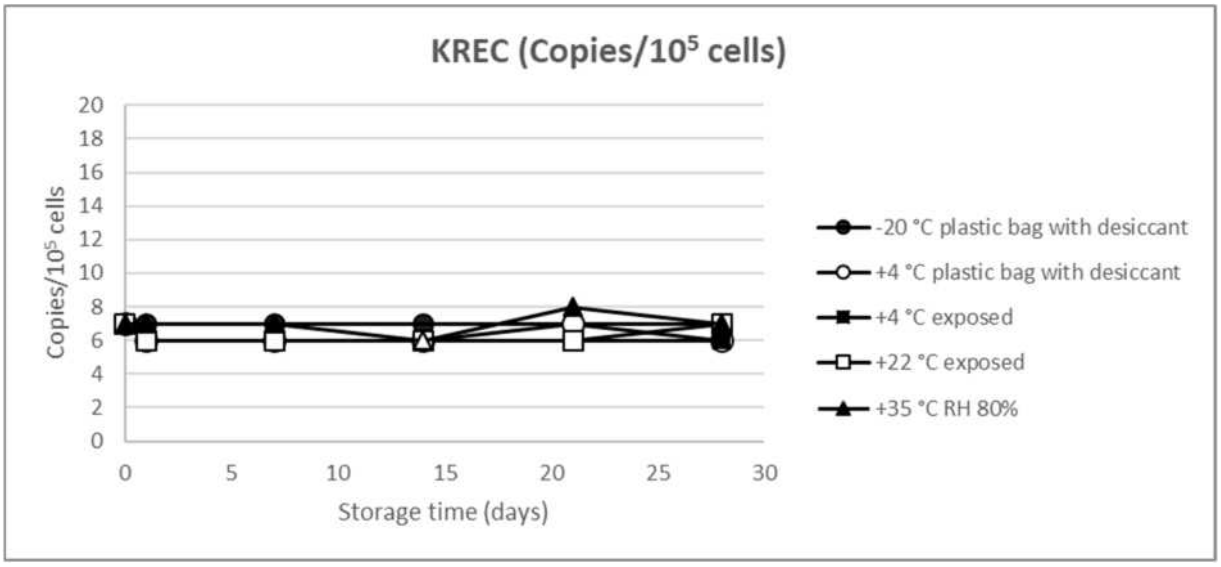


Рисунок 4. Копии KREC в образце, имитирующем истинно положительный результат, в различных условиях хранения.

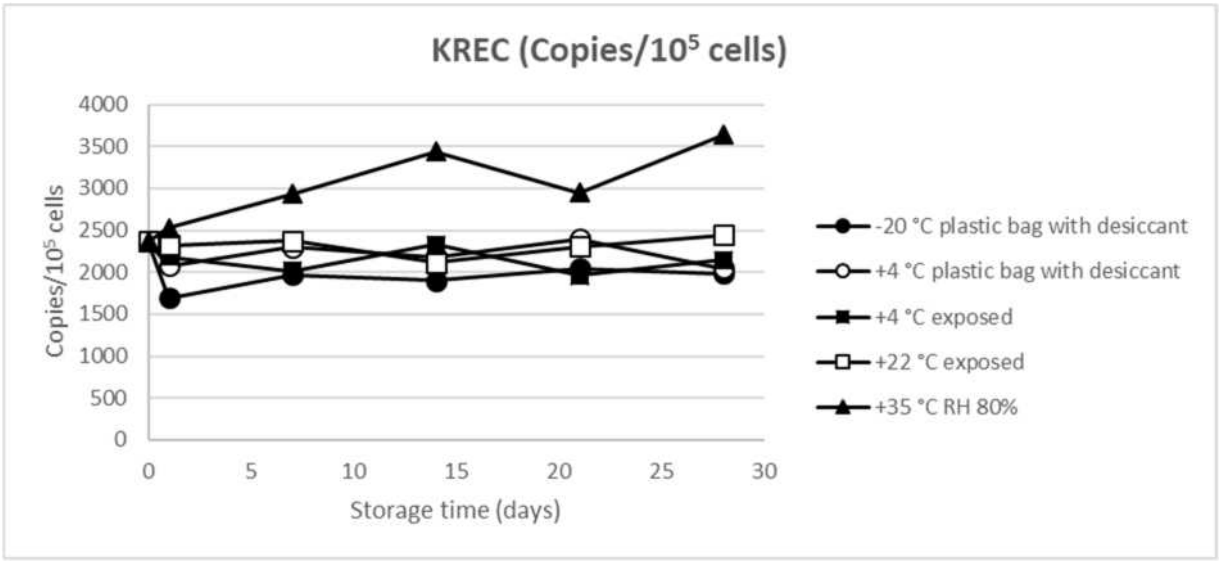


Рисунок 5. Копии KREC в образце пуповинной крови при различных условиях хранения.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностики *in vitro*.

К работе с данным комплектом допускается только специально обученный персонал.

Этот набор содержит реагенты, контроли, изготовленные из компонентов человеческой крови. Человеческая кровь была протестирована с использованием одобренных FDA методов или эквивалентных методов на поверхностный антиген гепатита B, антитела к гепатиту C и антитела к ВИЧ 1 и 2. Результаты показали отрицательную реакцию. Тем не менее, следует соблюдать все рекомендуемые меры предосторожности при обращении с производными продуктами крови. Соблюдайте рекомендации, указанные в публикации Министерства здравоохранения и социального обеспечения США "Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях" или к любому другому местному или национальному нормативному акту.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Работайте со всеми образцами пациентов как с потенциально инфекционными.

Утилизация всех отходов должна осуществляться в соответствии с местными правовыми актами.

МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

Контроли набора

Анализ следует онтролировать, анализируя контроли набора (C1-C3) и лунку "холостой" реакции (безматричный контроль, NTC) в двух параллельных анализах на каждом 96-луночном планшете для экстракции ДНК из DBS. См. вкладыш к набору Eonis DNA Extraction kit, где приведен пример схемы планшета.

C1 является отрицательным контролем на аналит и не содержит TREC, KREC и SMN1 аналитов. C2 и C3 являются положительными контролями на аналит, которые имеют одинаковый уровень аналита SMN1, но разные уровни аналитов TREC и KREC (более низкий уровень в C2 и более высокий уровень в C3). Все три контроля в наборе имеют одинаковый уровень RPP30. Для контроля отсутствия контаминации используются лунки "холостой" реакции без дисков образцов (NTC).

Методика количественного анализа

Используйте одноразовые перчатки и специальные лабораторные халаты в каждой рабочей зоне. Часто меняйте перчатки(например, при входе в новую рабочую зону).

ПРИМЕЧАНИЕ 1: После смешивания ПЦР-реагента 1 и ПЦР-реагента 2, ПЦР следует провести в течение ближайших 2 часов. Смесь ПЦР-реагентов 1 и 2 стабильна в течение 2 часов в герметичном планшете, защищенном от света.

ПРИМЕЧАНИЕ 2: крайне важно свести к минимуму воздействие воздуха на ПЦР-реагент 2, так как это может привести к значительному испарению и поглощению CO2 или O2 и, следовательно, повлиять на эффективность анализа. Время воздействия воздуха должно составлять не более 15 минут, если реагент находится в лотке объемом 60 мл (CLS151508), либо в 384-луночном ПЦР-планшете (4158-0010), либо в 96-луночном ПЦР-планшете (4174-0010), или не более 2 часов в их оригинальных флаконах объемом 5 мл, если они не укупорены или не запечатаны.

ПРИМЕЧАНИЕ 3: чтобы максимизировать эффективность анализа, настоятельно рекомендуем выполнять шаги с 1 по 7, когда экстракция ДНК выполняется с помощью набора Eonis DNA Extraction kit. Шаги5, 6 и 8 можно выполнить с помощью автоматизированных устройств для обработки жидкостей, например, приборы JANUS pCr Mastermix **(арт. № CLS150057),** JANUSExtractionMini**(арт. № CLS153416) и**JANUSExtraction**(арт. № CLS150056) или вручную.**

1. Обеззараживайте лабораторное оборудование в соответствии со стандартными лабораторными процедурами или рекомендациями производителей.

2. Рассчитайте минимальный объем ПЦР-реагента 1 и ПЦР-реагента 2, необходимый для проведения теста, используя формулы:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для ручной настройки: 6 мкл x (общее количество образцов и контролей) x 110%.

Для автоматизированных устройств для обработки жидкостей: 6 / мкл x (общее количество образцов и контролей) x 105% + (половина мертвого объема лотка). **Примечание**: мертвый объем лотка объемом 60 мл составляет 560 мкл (половина - 280 мкл).

3. Извлеките из хранилища необходимые объемы ПЦР-реагента 1 и ПЦР-реагента 2 и дайте им оттаять (около 60 минут для полного оттаивания флакона при температуре от +19°C до +25°C).

4. Перемешивайте ПЦР-реагент 1 и ПЦР-реагент 2 в течение 10 секунд. Соберите содержимое со дна флаконов подходящим методом (например, центрифугированием).

5. **Для ручной настройки**: добавьте равные объемы (рассчитанные на Шаге 2) ПЦР-реагента 1 и ПЦР-реагента 2 в подходящий контейнер (рекомендуется использовать микроцентрифужную пробирку Eppendorf® LoBind) и перемешивайте в течение 10 секунд. При использовании многоканальной пипетки после смешивания перенесите смесь в лоток. Сведите к минимуму воздействие воздуха. **Примечание: смесь следует утилизировать, если она была оставлена в открытом лотке без крышки более чем на 15 минут. Для ручного процесса рекомендуется использовать микроцентрифужные пробирки Eppendorf® LoBind или их эквивалент.**

   Для автоматизированных устройств для обработки жидкостей: поместите открытые флаконы с ПЦР-реагентом 1 и ПЦР-реагентом 2 на соответствующие места вместе со всем необходимым лабораторным оборудованием. Запустите автоматический протокол.

   Примечание: смесь следует утилизировать, если она была оставлена в открытом лотке без крышки более чем на 15 минут. При минимальном воздействии воздуха в герметичном планшете смесь остается стабильной в течение 2 часов.

6. **Для ручной настройки**: перенесите 12 мкл смеси после шага 5 в 96-луночный или 384-луночный ПЦР-планшет в соответствии со схемой(схемами) планшета(ов) для экстракции ДНК. Закройте флаконы с остатками ПЦР-реагента 1 и ПЦР-реагента 2 и переместите их в температуру от +2 до +8°C. (**Примечание**: открытые флаконы стабильны в течение 14 дней при температуре от +2 до +8°C после укупорки.)

   Для автоматизированных устройств для обработки жидкостей: после завершения протокола закройте флаконы с ПЦР-реагентом 1 и ПЦР-реагентом 2 и переместите их в температуру от +2 до +8°C. (**Примечание**: открытые флаконы стабильны в течение 14 дней при температуре от +2 до +8°C после укупорки.)

7. Закройте 96-луночный или 384-луночный ПЦР-планшет прозрачной уплотнительной пленкой для ПЦР-планшетов и перенесите в зону проведения ПЦР. (**Примечание**: у оператора есть 15 минут, чтобы запечатать 96-луночный или 384-луночный ПЦР-планшет. **Планшет следует утилизировать, если он был открыт дольше 15 минут**.)

8. Аккуратно снимите пленку с 96-луночного или 384-луночного ПЦР-планшета и добавьте 3 мкл экстрагированной ДНК в каждую лунку в соответствии со схемой планшета (ручным пипетированием или с использованием автоматизированного устройства для обработки жидкостей). Примечание: при необходимости кратковременно центрифугируйте планшет, чтобы собрать жидкость на дно лунок, прежде чем снять пленку. Сначала смешайте извлеченную ДНК пипеткой вверх и вниз перед переносом, если они извлечены из хранилища при температуре от +2 до +8°C. **Примечание: Если экстракция ДНК проводилась с помощью устройства для обработки жидкостей и прошло более одного часа между завершением экстракции и добавлением ДНК в 96-луночные или 384-луночные планшеты, утилизируйте наконечники, использованные во время экстракции ДНК, и используйте новые наконечники**.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Сразу повторно закройте планшет новой прозрачной уплотнительной пленкой для ПЦР-планшетов, перемешивайте в течение 10 секунд, а затем центрифугируйте планшет при 350 x *g* в течение 5 минут.

10. Визуально проверьте, чтобы планшеты были герметично закрыты по краям и что в каждой лунке находится примерно одинаковое количество раствора и в них нет пузырьков. (**Примечание**: если в растворе есть пузырьки и/или капли на стенке лунки, повторите шаг 9.)

11. Включите прибор QuantStudio™ Dx real-time PCR в режиме IVD. Откройте программное обеспечение QuantStudio™ Dx 1.0.3 и запустите метод тестирования Eonis SCID-SMA 384-well (для 384-луночных планшетов) или метод тестирования Eonis SCID-CMA 96-well (для 96-луночных планшетов).

12. Следуйте инструкциям на экране, чтобы загрузить файл ввода образца (файл в формате .txt), просканируйте штрих-код 96-луночного или 384-луночного ПЦР-планшета и заполните информацию о наборе ПЦР-реагентов, сканируя штрих-коды в сертификате контроля качества набора или вводя их вручную. (**Примечание**: файл ввода образца должен быть создан строго в соответствии с требованиями, описанными в разделе "ИНСТРУКЦИЯ ДЛЯ ФАЙЛА ВВОДА ОБРАЗЦА”.)

13. Загрузите 96-луночный или 384-луночный ПЦР-планшет в прибор.

14. Запустите процесс амплификации на приборе.

15. По завершении цикла программное обеспечение Eonis Analysis автоматически обработает файлы данных, созданные программой QuantStudio ™ Dx 1.0.3, и создаст отчет об испытаниях. (**Примечание**: Программное обеспечение Eonis Analysis можно настроить для мониторинга и обработки файлов данных, генерируемых максимум десятью приборами QuantStudio™ Dx Real-Time PCR через интранет. В случае, если интранет недоступен, файлы можно перенести и загрузить в программное обеспечение Eonis Analysis вручную. Дополнительные сведения см. в руководстве пользователя программного обеспечения Eonis Analysis.)

16. Достаньте планшет из прибора и визуально проверьте, что в каждой лунке примерно одинаковый объем раствора и что во время амплификации не происходило испарения. Соблюдайте местные нормативные акты и надлежащую практику утилизации планшета. **Примечание**: НЕ открывайте планшет.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Программное обеспечение Eonis Analysis автоматически интерпретирует результаты и выделяет наличие действительных или недействительных результатов, а также предполагаемые положительные образцы в созданном отчете. Перед интерпретацией результатов программное обеспечение проверяет целостность файла данных и основную информацию о настройках сбора и анализа данных, содержащихся в файле данных, и в случае обнаружения ошибки создает запись в журнале ошибок и не создает отчет. Примечание: Следуйте записи журнала ошибок для устранения неполадок, если сообщается об ошибках.

Есть два возможных результата для каждого контроля из набора: «действительный» или «недействительный». Если получен результат "недействительный", обратитесь к Таблице 2 с указаниями по устранению неполадок:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2. Руководство по устранению неполадок при ошибке результата контроля из набора

Контроль	Неполадка	Возможные причины	Устранениенеисправностей
C1	Оба контроля C1 недействительны	- ошибка проверки качества амплификации (автоматическое исходное значение или многокомпонентное ROX)	Образцы, обработанные в том же 96-луночном планшете для экстракции ДНК, будут признаны *недействительными*, их необходимо повторить. Если реагенты не вскрывались рекомендуется провести повторный анализ, если есть подозрение на значительное загрязнение и / или реагент не сработал.
	В обоих контролях C1 отсутствует значение Ct для RPP30	- потеря образца - ошибка во время процесса - реагент не сработал	
	Один или два контроля C1 имеют Ct значение KREC, TREC или SMN1 ниже допустимого нижнего предела*	- значительная контаминация	
	Один или два контроля C1 имеют Ct значение RPP30 вне диапазона*	- ошибка во время процесса - реагент не сработал	
C2	Оба контроля C2 недействительны	- ошибка проверки качества амплификации (автоматическое исходное значение или	
	В обоих контролях C2 отсутствует значение Ct для RPP30, SMN1, TREC и KREC	- потеря образца - ошибка во время процесса - реагент не сработал	
	В одном или двух контролях C2, отсутствует значение Ct для KREC, TREC или SMN1	- ошибка во время процесса - реагент не сработал	
	Любое из Ct значений RPP30, SMN1, TREC, KREC и / или ΔCt TREC или ΔCt KREC вне диапазона * в одном или двух контролях C2	- ошибка во время процесса - реагент не сработал	
C3	Оба контроля C3 недействительны	- ошибка проверки качества амплификации (автоматическое исходное значение или многокомпонентное ROX)	
	В обоих контролях C3 отсутствует значение Ct для RPP30, SMN1, TREC и KREC	- потеря образца - ошибка во время процесса - реагент не сработал	
	В одном или двух контролях C3, отсутствует значение Ct для KREC, TREC или SMN1	- ошибка во время процесса - реагент не сработал	
	Любое из Ct значений RPP30, SMN1, TREC, KREC и / или ΔCt TREC или ΔCt KREC вне диапазона* в одном или двух контролях C3	- ошибка во время процесса - реагент не сработал	

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

NTC	Оба контроля NTC недействительны	- ошибка проверки качества амплификации (автоматическое исходное значение или многокомпонентное ROX)	
	Один или два контроля NTC имеют значение Ct для одной или нескольких мишеней ниже допустимого нижнего предела*	- значительная контаминация	

* предустановка в программном обеспечении Eonis Analysis

После проверки действительности контроля программное обеспечение Eonis Analysis выполняет проверку качества амплификации оставшихся образцов цикла. Если в образце обнаружена ошибка, результаты образца считаются недействительны *. Для действительных образцов программное обеспечение Eonis Analysis использует следующие матрицы для автоматической интерпретации результатов (см. таблицы 3, 4 и 5 ниже).

Примечание: концентрация TREC и концентрация KREC (копии / 10^5 ячеек) вычисляются программным обеспечением с использованием значение ΔCt TREC и ΔCt KREC, и количество указывается в созданном отчете в формате PDF.

Пороговое значение TREC и пороговое значение KRECв программном обеспечении Eonis Analysis могут настраиваться пользователем. Порогового значение SMN1 предварительно задается в программном обеспечении Analysis Software. Дополнительные сведения см. в руководстве пользователя программного обеспечения Eonis Analysis.

Таблица 3. Матрица интерпретации результатов TREC

Значения Ct для Rpp30		**Значения Ct для TREC**		**Концентрация TREC (копии/10^5 клеток)**	**Интерпретация результатов для TREC**
Ct < 15,0	Значения не учитываются при значении Ct RPP30 < 15,0				Недействительный*
15,0 ≤ Ct ≤ 32,00	AND	Ct < 18.0	Значения не учитываются при значении Ct TREC < 18,0		Недействительный*
		Ct > 18.0	AND	Концентрация TREC > пороговое значение TREC	Предположительно нормальный
			AND	Концентрация TREC < пороговое значение TREC	Предположительно положительный*
	AND	Отсутствие Ct	"холостая” реакция = 0		Предположительно положительный*
Ct > 32.00 или отсутствие Ct	Значения не учитываются при значении Ct RPP30 > 32.00 или при отсутствии Ct				Недействительный*

* Образцы с недействительными или предположительно положительными результатами необходимо проверить повторно в соответствии с алгоритмом испытаний лаборатории.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 4. Матрица интерпретации результатов KREC

Значения Ct для Rpp30		**Значения Ct для KREC**		**Концентрация KREC (копии/10^5 клеток)**	**Интерпретация результатов для KREC**
Ct < 15,0	Значения не учитываются при значении Ct RPP30 < 15,0				Недействительный*
15,0 ≤ Ct ≤ 32,00	AND	Ct < 18.0	Значения не учитываются при значении Ct KREC < 18,0		Недействительный*
			AND	Концентрация KREC > Пороговое значение KREC	Предположительно нормальный
			AND	Концентрация KREC < Пороговое значение KREC	Предположительно положительный*
	AND	Отсутствие Ct	"холостая" реакция = 0		Предположительно положительный*
Ct > 32.00 или отсутствие Ct	Значения не учитываются при значении Ct RPP30 > 32.00 или при отсутствии Ct				Недействительный*

* Образцы с недействительными или предположительно положительными результатами необходимо проверить повторно в соответствии с алгоритмом испытаний лаборатории.

Таблица 5. Матрица интерпретации результатов SMN1

Значения Ct для Rpp30		**Значения Ct SMN1**	**Интерпретация результатов для SMN1**
Ct < 15,0	Значения не учитываются при значении Ct RPP30 < 15,0		Недействительный*
15,0 ≤ Ct ≤ 32,00	AND	Ct < 15,0	Недействительный*
	AND	15,0 ≤ Ct ≤ 31.24	Предположительно нормальный
	AND	Ct > 31.24 или отсутствие Ct	Предположительно положительный*
Ct > 32.00 или отсутствие Ct	Значения не учитываются при значении Ct RPP30 > 32.00 или при отсутствии Ct		Недействительный*

* Образцы с недействительными или предположительно положительными результатами необходимо проверить повторно в соответствии с алгоритмом испытаний лаборатории.

Когда сообщается о недействительном результате, программное обеспечение также сообщит о причине неполадки в созданном отчете. Ct < 18.0 или Ct < 15.0 обычно обычно вызваны отклонениями кривой ПЦР, и рекомендуемая мера устранения неполадки - повторить амплификацию ПЦР или тест. RPP30 Ct > 32.00 или отсутствие Ct, как правило, вызвано некорректным процессом экстракции ДНК, недостаточным количеством DBS и / или плохим качеством образца, что приводит к низкому выходу ДНК или переносу ингибитора ПЦР. Рекомендуемая мера устранения неполадки заключается в повторении теста или/и запросе нового образца.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНСТРУКЦИЯ ДЛЯ ФАЙЛА ВВОДА ОБРАЗЦА ДЛЯ ПРИБОРА QUANTSTUDIO™ DX REAL-TIME PCR

Файл ввода, необходимый для прибора Quant Studio Dx для поддержки отслеживания образцов, можно подготовить, следуя приведенным ниже инструкциям. **Примечание**: Если приборJANUSExtractioninstrument (арт. №CLS150056) илиJANUSExtractionMiniinstrument (арт. № CLS153416) используются для автоматического извлечения ДНК, файл Quant Studio Dx будет сгенерирован автоматически.

- Файл должен содержать следующие названия в определенном порядке: название образца, цвет, ID образца, дата экстракции, штрих-код ПЦР-планшета, штрих-код планшета для экстракции, номер планшета для экстракции, партия реагента для экстракции, срок годности партии реагента для экстракции, оператор, проводящий экстракцию.
- Файл должен содержать ровно 384 (для 384-луночного планшета) или 96 (для 96-луночного планшета) строк, не включая заголовок.
- В поле «Название образца» можно указать любую последовательность, но оно должно быть уникальным для каждой строки. Рекомендуется всегда использовать от S1 до S384 (для 384-луночного планшета) или от S1 до S96 (для 96-луночного планшета).
- Поле "Цвет” должно быть пустым.
- В поле "ID образца" указывается реальное имя образца. Контроли должны быть названы как NeoMDx_NTC, NeoMDx_C1, NeoMDx_C2 и NeoMDx_C3. В названии образца не должны использоваться названия контролей. Поля лунок без образца должны быть заполнены словом "ПУСТО”.
- В поле "Дата экстракции" указывается соответствующая дата экстракции ДНК из этого образца в формате ”19 марта 2019".
- В поле "Штрих-код ПЦР-планшета" указывается актуальный штрих-код384-луночного или 96-луночного ПЦР-планшета, который будет анализироваться, и оно должно быть одинаковым для всех рядов.
- В поле "Штрих-код планшета для экстракции" указывается актуальный штрих-код планшета для экстракции ДНК для соответствующего образца, которому предшествует «N», например, «N12345».
- Поле "Номер планшета для экстракции" может быть заполнено любым цифровым числом.
- В поле "Партия реагента для экстракции” указывается фактический номер партии набора Eonis DNA Extraction kit, который используется для извлечения соответствующего образца.
- В поле "Срок годности партии реагента для экстракции" указывается дата истечения срока годности набора Eonis DNA Extraction kit в формате "12 июля 2019".
- В поле "Оператор, проводящий экстракцию" указывается фамилия или инициалы оператора, который экстрагирует ДНК из соответствующего образца.
- Файл ввода образца необходимо сохранять в виде файла с расширением .txt с ограничителем табуляции.

ПРИМЕЧАНИЯ К МЕТОДИКЕ

1. В лабораториях должно быть не менее трех физически разделенных рабочих зон: зона подготовки ПЦР для приготовления реакционной ПЦР-смеси, зона обработки образцов для выбивания образцов и экстракции ДНК и зона для амплификации и обнаружения ПЦР-продукта. В случае отсутствия трех отдельных лабораторных помещений вытяжки или вытяжной шкаф с насадками для ультрафиолетового излучения могут обеспечить чистую зону подготовки ПЦР; вытяжки или вытяжные шкафы могут быть размещены в том же помещении, что и зона обработки образцов для выбивания образцов и извлечения ДНК. Зона, используемая для амплификации и обнаружения продукта, должна быть отделена от зон подготовки ПЦР и обработки образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Чтобы предотвратить заражение, лаборатории должны внедрить рабочий процесс, который сводит к минимуму переход от «грязных» к «чистым» зонам во время работы ПЦР. Чистой зоной являются зона подготовки ПЦР и зона обработки образцов без продукта амплификации, и где настраиваются реакции амплификации. К грязной зоне относится зона, где происходит амплификация и работа с ее продуктами, а также используются методы обнаружения ПЦР. Также при регулярной уборке лабораторных помещений следует учитывать рабочий принцип — от «чистого» к «грязному».

3. Закрывайте контейнеры с реагентами сразу после использования, чтобы избежать воздействия возможных источников загрязнения.

4. 96-луночные ПЦР-планшеты, 384-луночные ПЦР-планшеты и прозрачные уплотнительные пленки для ПЦР-планшетов храните в оригинальной упаковке до использования. Избегайте контакта с возможными источниками загрязнения.

5. Внимательно изучите данный вкладыш для правильного применения данного набора. Реактивы, поставляемые с этим набором, предназначены исключительно для совместного использования. Не смешивайте одинаковые реагенты из наборов, имеющих разные номера партий. Не используйте реагенты набора после истечения срока годности, указанного на этикетке набора.

6. Любое отклонение от методики количественного анализа может повлиять на результаты.

7. Лаборатории должны следовать местным нормативным актам и надлежащей практике утилизации планшетов для экстракции, включающих диск с образцами и пробы, чтобы избежать загрязнения. Утилизация пятен крови должно производиться в соответствии с местным нормативными актами и политикой учреждения.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Условия, которые вызывают аномальные результаты аналитического анализа:

- образец неравномерно насыщен кровью
- диск с образцом выбит слишком близко к краю пятна крови
- плохо собранные и неправильно высушенные образцы
- неэлюирующее пятно крови из-за ухудшения качества образца, вызванного воздействием тепла и влажности

Загрязнение фильтровальной бумаги с пятнами крови может привести к аномальным результатам аналитического анализа.

Этот тест не предназначен для диагностики или скрининга SCID-подобных синдромов, таких как синдром Ди Георге или синдром Оменна. Он также не предназначен для скрининга менее острых синдромов SCID, таких как атипичный SCID или вариативный SCID.

Низкое количество копий TREC может быть результатом иммунодефицитных расстройств, таких как синдром Ди Георге, а иногда и результатом приема иммунодепрессивных препаратов и слабой иммунной системы, как в случае недоношенных детей. [14], [24], [32], [33]

Новорожденные со SCID с ADA недостаточностью при рождении могут иметь нормальный уровень TREC, который со временем снижается по мере прогрессирования заболевания. В случае, если тест Eonis проводится на образцах, собранных через 2-6 дней после рождения, тест может не обнаружить эту форму SCID.

Набор Eonis не способен обнаружить SCID-подобные нарушения, вызванные мутациями *IKK2*, которые приводят к аномальной функции Т и В-клеток, и не способен обнаружить СМА, не несущую гомозиготную делецию экзона 7 *SMN1* и атипичную XLA и носителей XLA.

См. Также раздел «ПРИМЕЧАНИЯ К МЕТОДИК».

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ[1]

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Каждая лаборатория должна установить свои собственные пороговые значения. Каждая лаборатория должна протестировать достаточно большое количество образцов новорожденных (например, 3000 образцов), чтобы установить нормальное распределение уровней TREC и KREC в популяции и установить пороговое значение.

Распределение популяции новорожденных было определено путем анализа 3341 образца высушенной крови новорожденных с помощью набора Eonis SCID-SMA. Образцы представляют собой рутинные скрининговые образцы.

Описательная статистика для TREC и KREC (копии / 10^5 клеток) и процентили для рутинных скрининговых образцов приведены в таблице 6 ниже.

Таблица 6. Описательная статистика и процентили для копий TREC и KREC/10^5 ячеек.

Аналит	N	Медианный	Минимум	Максимум	0.3 процентиль	0.5 процентиль	1.0 процентиль
TREC	3341	2520	117	9990	262	413	563
KREC	3341	3590	10.0	99000	129	261	484

Частотные распределения аналитов TREC и KREC показаны на следующих графиках (Рисунки 6 и 7).

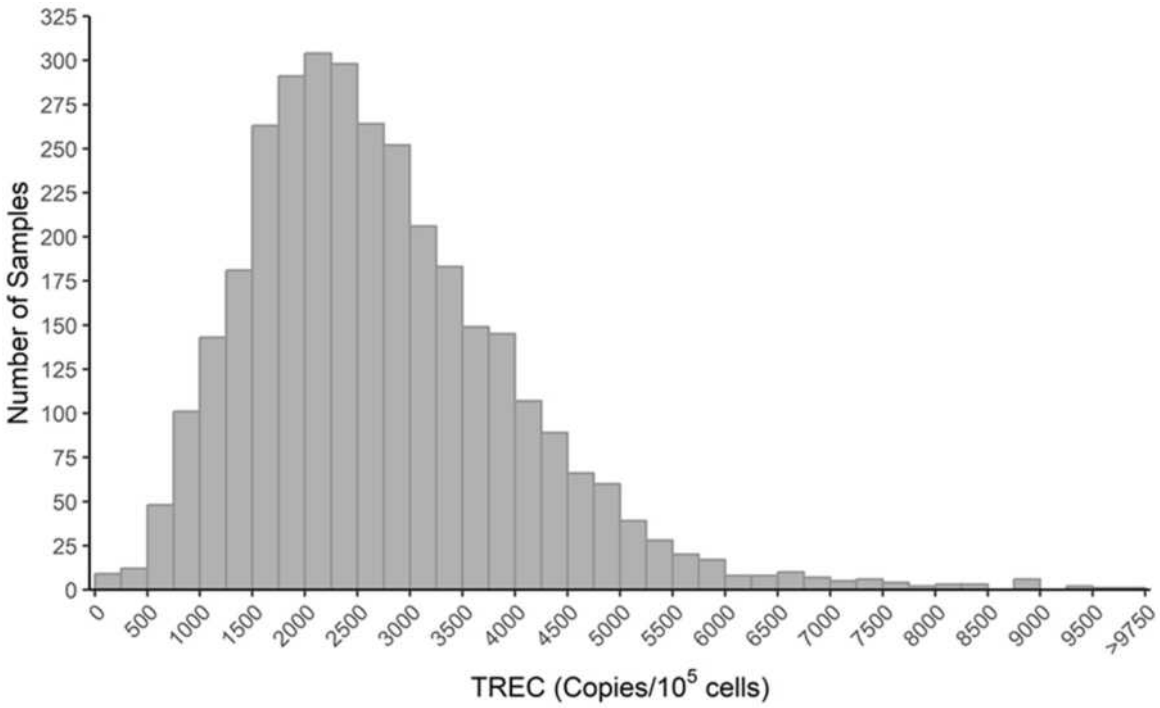


Рисунок 6. Распределение TREC (копии/10^5клеток) предположительно нормальных образцов новорожденных.

[1] исследование выполнено для компании Wallac Oy, Турку, Финляндия.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

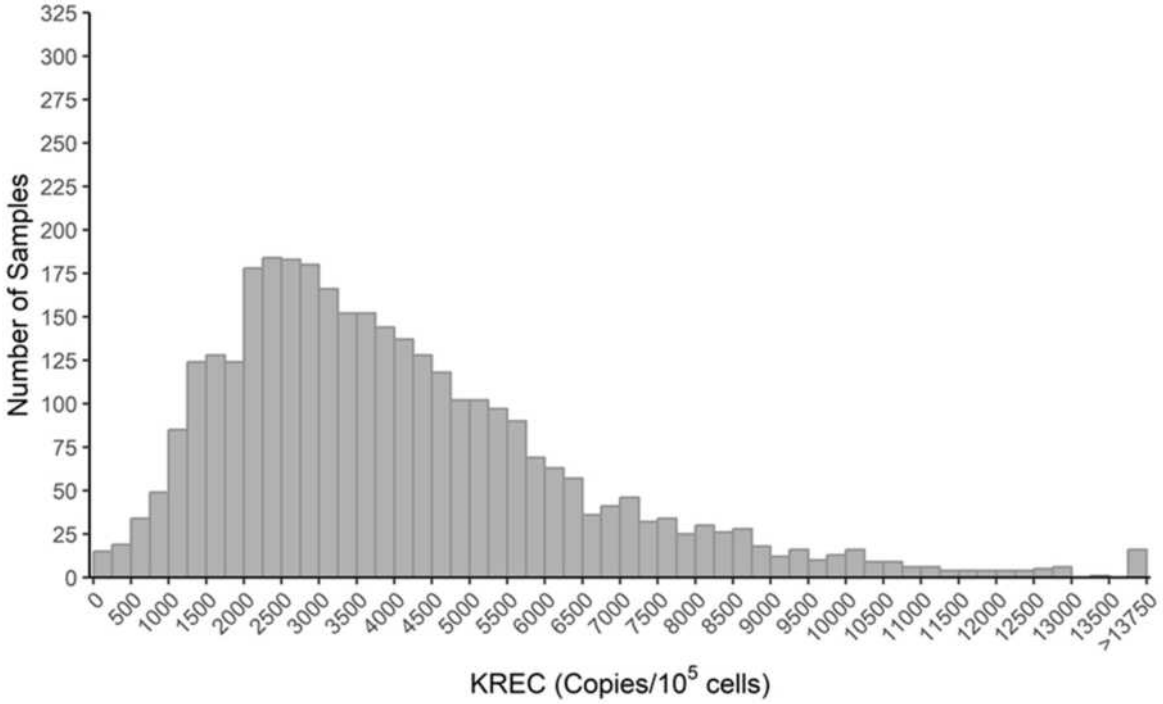


Рисунок 7. Распределение KREC (копии/10^5клеток) предположительно нормальных образцов новорожденных.

ОТЧЕТНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТВ[2]

Диапазон измерения TREC составляет от 242 копий/10^5 клеток до 4316 копий/10^5 клеток. Образцы со значениями ниже 242 копий/10^5 клеток, рекомендуется указывать в отчете как "<242 копий / 10^5 клеток" (пример алгоритма см. В разделе "ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ"). Образцы со значениями выше 4316 копий/ 10^5 клеток, рекомендуется указывать в отчете как ">4316 копий / 10^5 клеток" и считаются отрицательными на скрининге TREC.

Диапазон измерения KREC составляет от 459 копий/10^5 клеток до 24343 копий/10^5 клеток. Образцы со значениями ниже 459 копий/10^5 клеток, рекомендуется указывать в отчете как "<459 копий/10^5 клеток" (пример алгоритма см. вразделе" ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ"). Образцы со значениями выше 24343 копий/ 10^5 клеток, рекомендуется указывать в отчете как ">4316 копий / 10^5 клеток" и считаются отрицательными на скрининге KREC.

[2]Исследования проведены компанией PerkinElmer, Inc., Уолтем, Массачусетс, США.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СКРИНИНГА [3]

Эффективность скрининга набора Eonis SCID-SMA была установлена путем измерения TREC, KREC и SMN1 (и RPP30) на 3090 образцах DBS в соответствии с предложенным алгоритмом скрининга, описанным в разделе «РЕЗУЛЬТАТЫ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ».

Результаты (предположительно нормальный, предположительно положительный, недействительный результат) были классифицированы после второго этапа тестирования в соответствии с предложенным алгоритмом скрининга, описанным в разделе "РЕЗУЛЬТАТЫ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ".

В общей сложности в исследовании тестировали ретроспективные образцы: 17 SCID, 4 XLA и 51 CMA. Остальные 3090 образцов считались нормальными образцами для скрининга новорожденных.

Эффективность скрининга рассчитывалась с использованием порогового значения 0,3 процентиля (262 копии/10^5 клеток) для TREC, порогового значения 1,0 процентиля (484 копии/10^5 клеток) для KREC и порогового значения Ct для *SMN1* 31,24. Результаты представлены в таблице 7 ниже.

Таблица 7. Скрининговые характеристики набора Eonis SCID-SMA kit.

TREC		**Клиническое состояние**		**Всего (%)**
		Поражение SCID (%)	**Предположительно норма (%)**	
Результат скрининга	**Предположительно положительный (%)**	17 (100 %)	9 (0.3 %)	26 (0.9 %)
	Предположительно нормальный (%)	0 (0.0 %)	3008 (99.7 %)	3008 (99.1 %)
	Всего (%)	17 (100 %)	3017 (100 %)	3034 (100 %)

KREC		**Клиническое состояние**		**Всего (%)**
		Поражение XLA (%)	**Предположительно норма (%)**	
Результат скрининга	**Предположительно положительный (%)**	4 (100 %)	9 (0.3 %)	13 (0.4 %)
	Предположительно нормальный (%)	0 (0.0 %)	3004 (99.7 %)	3004 (99.6 %)
	Всего (%)	4 (100 %)	3013 (100 %)	3017 (100 %)

SMN1		**Клиническое состояние**		**Всего (%)**
		Поражение CMA (%)	**Предположительно норма (%)**	
Результат скрининга	**Предположительно положительный (%)**	51 (100 %)	0 (0.0 %)	51 (1.7 %)
	Предположительно нормальный (%)	0 (0.0 %)	3018 (100 %)	3018 (98.3 %)
	Всего (%)	51 (100 %)	3018 (100 %)	3069 (100 %)

3 исследование выполнено для компании Wallac Oy, Турку, Финляндия.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ [4]

Репрезентативные данные об эффективности приведены ниже. Результаты, полученные в отдельных лабораториях, могут отличаться.

Прецизионность

Прецизионность определялась в соответствии с документом CLSI EP05-A3 [34].

Вариативность результатов анализа Eonis SCID-SMA была определена на основе образцов засохших пятен крови, 3 партий набора, 3 наборов тест-систем EONIS (в том числе трех приборов CLS150056 JANUS Extraction, трех приборов CLS150057 JANUS PCR Mastermix и трех приборов 2031-0010 QuantStudio™ Dx Real-Time PCR), с помощью 2 операторов, которые провели 54 прогона за 23 календарных дня. Каждый прогон включал два параллельных анализа 1 планшета на образец по рандомизированной схема планшета. Общее количество измерений составило 108 на образец. Анализ на вариативность был использован для расчета следующих показателей:

Для данных о прецизионности TREC значения в столбце «Среднее знач. TREC копии/ 10^5 клеток» преобразованы из логарифмических (Ln) средних значений, и, следовательно, они представляют собой средние геометрические значения на шкале копий / 10^5 клеток. Результаты вариативности представлены в виде SD (стандартного отклонения) в логарифмической (Ln) шкале и в виде %CV в логнормальной шкале, см. таблицу 8.

Таблица 8. Прецизионный анализ TREC с оценками вариации.

Образец	n	Среднее знач. TREC копии/ 10^5 клетки	Среднее знач. TRECLn (копии/ 10^5 клетки)	Отклонение в пределах прогона (LnSD)	Отклонение в пределах прогона (Логнормальный-%CV)	Отклонение в пределах партии (LnSD)	Отклонение в пределах партии (Логнормальный %CV)	Общее отклонение (Ln SD)	Общее знач. прогона (Логнормальный %CV)
1	105	159	5.07	0.76	88	0.77	91	0.79	92
2	106	464	6.14	0.42	44	0.45	47	0.47	49
3	107	1022	6.93	0.34	35	0.38	39	0.39	40
4	106	2165	7.68	0.37	38	0.37	38	0.37	38
5	107	4105	8.32	0.24	24	0.29	30	0.30	30

Для данных о прецизионности KREC значения в столбце «Среднее знач. TREC копии/ 10^5 клеток» преобразованы из логарифмических (Ln) средних значений, и, следовательно, они представляют собой средние геометрические значения на шкале копий / 10^5 клеток. Результаты вариативности представлены в виде SD (стандартного отклонения) в логарифмической (Ln) шкале и в виде %CV в логнормальной шкале, см. таблицу 9.
Таблица 9. Прецизионный анализ KREC с оценками вариации.

4 Исследования проведены компанией PerkinElmer, Inc., Уолтем, Массачусетс, США.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 9. Прецизионный анализ KREC с оценками вариации.

Образец	n	Среднее знач. TREC копии/ 10^5 клетки	Среднее знач. TRECLn (копии/ 10^5 клетки)	Отклонение в пределах прогона (LnSD)	Отклонение в пределах прогона (Логнормальный-%CV)	Отклонение в пределах партии (LnSD)	Отклонение в пределах партии (Логнормальный %CV)	Общее отклонение (Ln SD)	Общее знач. прогона (Логнормальный %CV)
1	104	478	6.17	0.53	57	0.64	71	0.66	74
2	107	1075	6.98	0.47	50	0.47	50	0.49	52
3	107	3361	8.12	0.36	37	0.37	39	0.38	39
4	106	5541	8.62	0.30	31	0.31	31	0.31	31
5	107	13494	9.51	0.24	24	0.30	31	0.32	32

Для данных о прецизионности SMN1 результаты параллельных анализов образцов были разделены на категории в соответствии с пороговым значением (31,24 SMN1 Ct) и представлены в таблице 10 ниже.

Таблица 10. Прецизионность данных SMN1

Образец	N	Нижнее пороговое значение (%)	Верхнее пороговое значение (%)
1	107	107 (100%)	0
2	108	108 (100%)	0
3	106	106 (100%)	0
4	107	107 (100%)	0
5	107	0	107 (100%)
6	106	106 (100%)	0

Нижние пределы обнаружения

Предел холостого образца (LoB), предел обнаружения (LoD) и предел количественного определения (LoQ) определялись в соответствии с документом CLSI EP17-A2 [35].

На основании 300 определений холостого образца (150 из каждой партии набора) предел холостого образца (LoB) для TREC, KREC, SMN1 и RPP30 составляет 0 копий/мкл крови и 0 копий/10^5 клеток.

Предел обнаружения (LoD) для TREC составляет 242 копии/10^5 клеток с вероятностью 95%. Предел количественного определения (LoQ) для TREC составляет 242 копии/10^5 клеток, что равно LoD.

Предел обнаружения (LoD) для KREC составляет 459 копий/10^5 клеток (RPP30 Ct = 24,1) с вероятностью 95%. Предел количественного определения (LoQ) для KREC составляет 459 копий/10^5 клеток, что равно LoD.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Линейность определялась в соответствии с документом CLSI EP06-A [36].

Доказано, что анализ Eonis SCID-SMA является линейным для TREC от 94 копий / 10^5 клеток до 4316 копий / 10^5 клеток. Доказано, что анализ для KREC является линейным от 299 до 24343 копий/10^5 клеток.

Интерференция

Набор Eonis SCID-SMA kit был оценен на интерференцию в соответствии с документом CLSI EP07-A2 [37].

Следующие потенциальные интерферирующие вещества были добавлены в цельную кровь в трех различных концентрациях TREC, KREC и SMN1; результаты показали, что они не проявляли интерференцию в концентрациях, указанных в таблице 11 ниже.

Таблица 11. Тестируемые интерферирующие вещества и их концентрации

Тестируемое вещество	Добавленная концентрация тестируемого вещества
Конъюгированный билирубин	16,6 мг/дл в крови
Гемоглобин	200 г/л в крови
Неконъюгированный билирубин	10 мг/дл в крови
Интралипид®	1500 мг/дл в крови
Литий-гепарин	7500 USP /дл в крови
ЭДТА	9,8 мг/мл в крови
Na-цитрат	0,0645 моль / л в крови

ГАРАНТИЯ

Представленные здесь данные о характеристиках были получены с использованием указанной методики количественного анализа. Любые изменения или модификации методики количественного анализа, не рекомендованные производителем, могут повлиять на результаты, и в этом случае компания Wallac Oy и ее филиалы не несут ответственность по явно выраженным, подразумеваемым или установленным законом гарантийным обязательствам, включая, в том числе по гарантиям товарного качества и соответствия назначению.

Wallac Oy, ее филиалы и уполномоченные дистрибьюторы в таком случае не несут ответственности за косвенный ущерб.

Интралипид является зарегистрированной торговой маркой Fresenius Kabi AB.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] Newborn screening act sheets and confirmatory algorithms. American College of Medical Genetics, 2011, http://www.acmg.net/StaticContent/ACT/SCID.pdf

[2] Centers for Disease Control and Prevention (2004): MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep., 53 (No. RR-1), 1-29.

[3] Cooper, M.D. et al. (2003): Immunodeficiency disorders. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 314-330. Review.

[4] Buckley, R.H. (2004): Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. Annu Rev Immunol 22, 625-655.

[5] Puck, J.M. (2007): Severe combined immunodeficiency: new advances in diagnosis and treatment. Immunol Res 38, 64-67.

[6] Buckley, R.H. (2000): Advances in the understanding and treatment of human severe combined immunodeficiency. Immunol Res 22, 237-251.

[7] Myers L.A. et al. (2002): Hematopoietic stem cell transplantation for severe combined immunodeficiency in the neonatal period leads to superior thymic output and improved survival. Blood 99, 872-878.

[8] Chan, A. et al. (2011): Early vs. Delayed Diagnosis of Severe Combined Immunodeficiency: A Family Perspective Survey. Clin Immunol 138, 3-8.

[9] Chan, B. et al. (2005): Long-term efficacy of enzyme replacement therapy for adenosine deaminase (ADA)-deficient severe combined immunodeficiency (SCID). Clin Immunol 117, 133-143.

[10] Gaspar, B.H. et al. (2011): Hematopoietic stem cell gene therapy for adenosine deaminase - deficient severe combined immunodeficiency leads to long.term immunological recovery and metabolic correction. Sci Transl Med 3, 97ra80.

[11] Hazenberg, M.D. et al. (2001): T cell receptor excision circles as markers for recent thymic emigrants: basic aspects, technical approach, and guidelines for interpretation. J Mol Med 79, 631-640.

[12] Borte, S. et al. (2012): Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. Blood. 119(11):2552-5.

[13] Douek, D.C. et al. (2000): Assessment of thymic output in adults after haematopoetic stem-cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. Lancet 355, 18751881.

[14] Chan, K. & Puck, J. (2005): Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. Allergy Clin Immunol 115, 391-398.

[15] CLSI (2013): Newborn Blood Spot Screening for Severe Combined Immunodeficiency by Measurement of T-cell Receptor Excision Circles; Approved Guideline. CLSI document NBS06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[16] Smith, E. and Berglof, A. X-Linked Agammaglobulinemia in GeneReviews®, Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019.

[17] Shillitoe, B and Gennery, A. (2017): X-Linked Agammaglobulinaemia: Outcomes in the

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

modern era. Clinical Immunology 183, 54-62.

[18] https://ghr.nlm.nih.gov/condition/x-linked-agammaglobulinemia#genes

[19] Nakagawa, N. et al. (2011): Quantification of kappa-deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation. J. Allergy Clin Immunol. 128(1), 223-235 e2.

[20] Barbaro, M. et al. (2017): Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden - a 2-year pilot TREC and KREC screening study. J. Clin Immunol. 37(1), 51-60.

[21] Verhaart, I.E.C. et al. (2017): Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. Orphanet J Rare Dis. 12,124-139.

[22] ACOG Committee Opinion No. 432: Spinal muscular atrophy. (2009) Obstet Gynecol. 113,1194-1196.

[23] Lunn, M.R., Wang, C.H. (2008): Spinal muscular atrophy. Lancet. 371, 2120-2133.

[24] Dissing, J. et al. (2010): Exploring the limits for survival of DNA in blood stains. J Forensic Leg Med 17, 392-396.

[25] CLSI (2005): Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline; CLSI document MM13-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[26] Chaisomchit, S. et al. (2005): Stability of genomic DNA in dried blood spots stored on filter paper. SEA J Trop Med PH. 36(1), 270-273.

[27] CLSI (2013): Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard - Sixth Edition. CLSI document NBS01-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute

[28] Hollegaard, M.V. et al. (2011): Robustness of genome-wide scanning using archived dried blood spot samples as a DNA source. BMC Genetics. 12(58), 1-7.

[29] Hollegaard M.V. et al. (2013): Archived neonatal dried blood spot samples can be used for accurate whole genome and exome-targeted next-generation sequencing. Mol Genet Metab. 110(1-2), 65-72.

[30] Grauholm J. et al. (2015): Gene expression profiling of archived dried blood spot samples from the Danish Neonatal Screening Biobank. Mol Genet Metab. 116(3), 119— 124.

[31] Routes, J.M. et al. (2009): Statewide newborn screening for severe T-cell lymphopenia. JAMA 302(22), 2465-2470.

[32] Comeau, A.M. et al. (2010): Guidelines for implementation of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. J Inherit Metab Dis. 33(Suppl 2): S273-281.

[33] Verbsky, J.W. et al. (2012): Newborn screening for severe combined immunodeficiency; the Wisconsin experience (2008-2011). J Clin Immunol. 32(1):82- 88.

[34] CLSI (2014): Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline - Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

[35] CLSI (2012): Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[36] CLSI (2003): Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[37] CLSI (2005): Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Сентябрь 2020

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3240-0010 (1152 реакций)

Eonis™ DNA Extraction kit

Инструкция по применению.

Производитель:
WallacOy (Валлак Ой),
Mustionkatu 6, FI-20750 Турку, Финляндия
www.perkinelmer.com
Телефон: +3582 2678 111

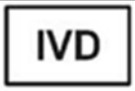
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

CE

PerkinElmer

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СИМВОЛЫ

Символ	Название символа и номер артикула	Источник символа / название стандарта и номер	Описание
	Диагностическое медицинское изделие для применения *invitro* № 5.5.1	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает, что медицинское изделие является изделием для диагностики, которое используется *invitro*.
	Код партии № 5.1.5	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает код партии, которым изготовитель идентифицировал партию изделия.
	Количество упаковок	Не применимо	Не применимо
	Номер по каталогу № 5.1.6	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает номер медицинского изделия по каталогу изготовителя
	Использовать до... № 5.1.4	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает дату, после истечения которой изделие не должно использоваться.
	Температурный диапазон № 5.3.7	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает температурный диапазон, в пределах которого медицинское изделие надежно хранится.
	Содержимого достаточно для провидения n-количества тестов № 5.5.5	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывается общее количество тестов invitro, которые могут быть выполнены с использование реагентов, содержащихся в наборе медицинского изделия для диагностики invitro.
	Обратитесь к инструкции по применению № 5.4.3	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с инструкцией по применению.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Символ	Название символа и номер артикула	Источник символа / название стандарта и номер	Описание
	Изготовитель № 5.1.1	ISO 15223, Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации	Указывает изготовителя медицинского изделия, как это определено в директивах Европейского Сообщества 90/385/EEC, 93/42 / EEC и 98/79/EC.
	Верх	IATA (Международная ассоциация воздушного транспорта)	Не применимо
	Подлежит вторичной переработке	RESY Организация по переработке ГмбХ (OrganizationfürWertstoffentsorgungGmbH)	Не применимо
	GHS05	Не применимо	См. элементы набора опасных компонентов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Eonis™ DNA Extraction kit

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Eonis™ DNA Extraction kit — это изделие для диагностики *in vitro*, предназначенное для выделения и очистки ДНК из образцов крови новорожденных, высушенных на фильтровальной бумаге.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ И ПРИНЦИП

Высушенное пятно крови (DBS) – это удобный и высокоточный метод отбора образцов крови, который включает в себя сбор и хранение небольшого объема крови на фильтровальной бумаге [1].

Набор Eonis DNA Extraction kit предоставляет эффективное решение для извлечения и очистки ДНК из диска DBS диаметром 3,2 мм для молекулярных анализов. Протокол экстракции состоит из двух этапов промывки, которые удаляют из образца нежелательные водорастворимые вещества, после чего следует высокотемпературная инкубация в щелочном растворе для элюирования с постоянным встряхиванием для элюирования ДНК из DBS. Элюат можно использовать сразу или поместить на хранение при температуре от +2 до +8°C в течение 48 часов. Весь протокол экстракции может быть выполнен вручную или устройством для работы с жидкостями, например, прибор фирмы JANUS®, может быть использован для автоматизации всего процесса экстракции. Компоненты набора Eonis DNA Extraction kit сохраняют стабильность в лотках на борту прибора для работы с жидкостями в течение 30 минут при температуре от +19 до +25°C до начала экстракции.

СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ НАБОРА

Каждый набор 3240-0010 Eonis DNA Extraction kit включает реагенты для 1152 образцов, включая контроли из набора.

Набор должен храниться при комнатной температуре (от+19 до +25°C). Срок годности закрытого набора указан на внешней этикетке. Не используйте компоненты после истечения срока годности.

Примечание: всегда используйте компоненты из одной партии набора.

Eonis является торговой маркой компании PerkinElmer, Inc.
JANUS является зарегистрированной торговой маркой компании PerkinElmer, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Реагенты

Компонент	Количество	Срок годности и хранение
Промывочный Раствор	1 флакон, 120 мл	Хранить при температуре от +19 до +25°C до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона. После вскрытия стабильно в течение 14 дней при температуре от +19 до +25°C. Флакон должен быть закрыт крышкой, когда он не используется.

Готовый к использованию буферный раствор PBS (фосфатно-солевой буфер) с Tween® 20 и ProClin™ 950 в качестве консерванта.

Раствор для элюирования  ОПАСНО	1 флакон, 230 мл	Хранить при температуре от +19 до +25°C до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона. После вскрытия стабильно в течение 14 дней при температуре от +19 до +25°C. Флакон должен быть закрыт крышкой, когда он не используется

Готовый к применению щелочной раствор с гидроксидом калия и основой Trizma®.

Раствор для элюирования содержит гидроксид калия:
H314 Вызывает серьёзные ожоги кожи и повреждения глаз.
P260 Не вдыхать пары или пыль.
P303+P361+P353 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязнённую одежду. Промыть кожу водой/под душем.
P305+P351+P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
P310 Немедленно обратиться в токсикологический центр или к врачу/…
P405 Хранить в закрытом помещении.
P501 Удалить содержимое/контейнер в соответствии с местными/региональными/национальными/ международными правилами.

Сертификат контроля качества на партию	1 шт.

Tween является зарегистрированной торговой маркой компании Croda Americas LLC.
ProClin является торговой маркой Dow Chemical Company (Dow) или дочерней компании Dow.
Trizma является зарегистрированной торговой маркой компании Sigma-Aldrich Co. LLC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ В НАБОРЕ

Выделенные жирным шрифтом товары можно приобрести у WallacOy, PerkinElmer, Inc. и ее дистрибьюторов.

Товар	Количество товара	Примечание
Планшет для экстракции ДНК	**4157-0010**	
Оборудование для работы с жидкостями	**JANUS Extraction instrument (арт. № CLS150056)** **JANUS Extraction Mini instrument (арт. № CLS153416)**	Ручные дозаторы или аналогичные устройства, оснащенные необходимыми принадлежностями и расходными материалами, которые позволяют переносить и распределять 80 мкл и более двух компонентов набора в планшет для экстракции ДНК с достаточной точностью и прецизионностью (CV% ≤ 10%), например**JANUS Extraction instrument (арт. № CLS150056) или JANUS Extraction Mini instrument (арт. № CLS153416)**
Шейкер-инкубатор	**Thermoshake™ (арт. № 7100146)**	Удерживает планшет для экстракции ДНК с адаптерами или без них, с диапазоном нагрева и охлаждения от +25°C (± 2°C) до +70°C (± 2°C) и встряхиванием при 700 об/мин (± 100 об/мин), например, **Thermoshake™ (арт. № 7100146)**
Панчер для DBS	**Панчер DBS от Wallac (арт. № 1296-071)с пробивочной головкой 3,2 мм (арт. № 1296-203) и адаптером планшета (арт. № 1296-2070) или Panthera-Puncher™ 9 (арт. № 2081-0010) с пробивочной головкой 3,2 мм (арт. № 2081-2020)**	Или эквивалент
Клейкая фольга	**4156-0010**	-
Центрифуга	-	Центрифугирование планшета **для экстракции ДНК (арт. № 4157-0010)** при 500 x г

Thermoshake является торговой маркой компании INHECO Industrial Heating & Cooling GmbH.
Panthera-Puncher является торговой маркой компании PerkinElmer, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Кроме того, для ручного или автоматизированного процесса требуются следующие расходные материалы:
Для автоматизированного процесса на приборе **JANUS Extraction instrument (арт. №. CLS150056)**

Товар	Количество товара	Примечание
RoboRack P235 Нестерильные наконечники, прозрачные, с аэрозольным барьером	**6001288**	Или эквивалент
Лоток, 60 мл	**CLS151508**	Или эквивалент
70% - ный раствор этанола	-	Для технического обслуживания
Дистиллированная вода или ее эквивалент. **Примечание**: не используйте деионизированную (DI) воду, которая разъедает нержавеющую сталь и сокращает срок службы наконечника для отбора проб	-	Для технического обслуживания

Примечание: Если используются другие автоматизированные устройства для работы с жидкостями, проконсультируйтесь с производителем относительно соответствующих расходных материалов и технического обслуживания.

Для автоматизированного процесса **на JANUS Mini Extraction instrument (арт. № CLS153416)**

Товар	Количество товара	Примечание
RoboRack P235 Нестерильные наконечники, прозрачные, с аэрозольным барьером	**6001288**	Или эквивалент
Полипропиленовый резервуар, V-образное дно	**6008730**	Или эквивалент
70% - ный раствор этанола	-	Для технического обслуживания
Дистиллированная вода или ее эквивалент. **Примечание**: не используйте деионизированную (DI) воду, которая разъедает нержавеющую сталь и сокращает срок службы наконечника для отбора проб	-	Для технического обслуживания

Примечание: Если используются другие автоматизированные устройства для работы с жидкостями, проконсультируйтесь с производителем относительно соответствующих расходных материалов и технического обслуживания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для ручного использования

Товар	Количество товара	Примечание
Резервуар для реагентов	Fisherbrand®, арт. № 13681500	Или эквивалент
НАКОНЕЧНИКИ ДЛЯ ПИПЕТОК С НИЗКИМ УДЕРЖАНИЕМ ART™ 1000 МКЛ SOFTFIT	2770-05-HR	Или эквивалент
Наконечники для пипеток с низким удержанием ART™ 200 мкл SoftFit	2769-05-HR	Или эквивалент

СБОР И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Кровь, собранная непосредственно из пяточного укола на фильтровальную бумагу, содержащую реагент для сбора образцов, является единственным подходящим типом образцов.

Проверьте местные правила для определения подходящего времени и отбора образцов для скрининга.

Для применения метода, основанного на высушенных образцах крови, необходимы соответствующие навыки сбора, обработки и транспортировки образцов. Техника сбора подробно описана в стандартах и руководствах, например, в стандарте CLSI NBS01-A6 [1]. Они также могут включать рекомендацию относительно сроков, в течение которых должна быть собрана кровь для целей неонатального скрининга (рекомендация стандарта CLSI заключается в том, чтобы сбор крови происходил по крайней мере через 24 часа после рождения).

Указания, указанные на изделии для сбора образцов, должны быть полностью выполнены.

Условиям хранения и транспортировки образцов высушенных пятен крови (DBS) следует уделять дополнительное внимание, даже несмотря на то, что ДНК в образцах DBS, как правило, стабильна и пригодна для ПЦР-анализа в течение не менее 1 месяца при условии хранения образцов при комнатной температуре (от+19°C до +25°C) [2],[3],[4]. Для длительного хранения (до ~20 лет) образцы следует помещать в полиэтиленовые пакеты вместе с осушителем и хранить при температуре от -30 до -16°C [1],[3],[5],[6],[7],[8].

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностики *in vitro*.

К работе с данным комплектом допускается только специально обученный персонал.

Этот набор содержит реагенты, изготовленные из компонентов человеческой крови. Соблюдайте рекомендации, указанные в публикации Министерства здравоохранения и социального обеспечения США "Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях" или к любому другому местному или национальному нормативному акту.

Работайте со всеми образцами пациентов как с потенциально инфекционными.

Fisherbrand является зарегистрированной торговой маркой компании Fisher Scientific Company LLC.
ART является торговой маркой Thermo Fisher Scientific.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Раствор для элюирования содержит гидроксид калия и вызывает серьёзные ожоги кожи и повреждения глаз. См. Особые меры предосторожности при работе с компонентами набора.

Утилизация всех отходов должна осуществляться в соответствии с местными правовыми актами.

МЕТОДИКА

Следующие процедуры могут быть выполнены вручную или на автоматизированном устройстве для работы с жидкостями.

1. Обеззараживайте лабораторное оборудование в соответствии со стандартными лабораторными процедурами или рекомендациями производителей.

2. Поместите образцы и контрольные карточки набора в зону выбивания и оставьте их в своих упаковках и дайте им достигнуть комнатной температуры (+19°C-+25°C) не менее чем за 30 минут до использования. Когда набор Eonis Extraction kit используется в сочетании с набором Eonis SCID-SMA kit, набор контрольные карточки набора (C1, C2 и C3), входящие в набор Eonis SCID-SMA kit 3241-0010 или 3242-0010 согласно схеме планшета,указанной в пункте 3 ниже.

3. Выбейте контроли набора и образцы в лунки планшета для извлечения ДНК в соответствии с заранее определенной схемой планшета. Для каждого планшета необходимо два набора контролей (C1, C2, C3 и безматричный контроль, NTC), причем один набор должен располагаться непосредственно перед первым образцом, а другой-сразу после последнего образца, как показано ниже. **Примечание**: Используйте пробивочную головку диаметром 3,2 мм. Убедитесь, что пятно крови равномерно насыщено кровью, и выбейте диск. После пробивки **визуально проверьте, что в каждой лункеесть диск в соответствии со схемой планшета, и пометьте лунки без диска, или в которыхесть несколько дисков.** Рекомендуется закрыть планшет клейкой фольгой при переносе на следующее место. При использовании набора Eonis DNA Extraction kit в сочетании с набором Eonis SCID-SMA kit планшет с выбитыми образцами может храниться при температуре от +19°C до +25°C в течение 4 часов.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NTC	C1	C2	C3	S	S	S	S	S	S	S	S
B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
G	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
H	S	S	S	S	S	S	S	S	C1	C2	C3	NTC

NTC = "холостой" образец= пустая лунка = безматричный контроль; C1-C3 = контроли набора; S = образец

4. Кратковременно центрифугируйте планшет(ы), чтобы собрать диски на дно лунок, и аккуратно снимите клейкую фольгу, если он был закрыт. (**Примечание**: этот шаг можно пропустить, если планшет не был закрыт.)

5. Добавьте 80 мкл промывочного раствора в каждую лунку, содержащую контроль (NTC, C1, C2, C3) или образец. Наконечники можно использовать для дозирования раствора во все лунки до тех пор, пока наконечник не коснется планшета или дисков.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6. Инкубируйте планшет в течение 8 минут, +25°C, 700 об/мин.

7. Остановите встряхивание после инкубации и удалите супернатант из каждой лунки. **Примечание**: Будьте осторожны, не извлеките диски.

8. Добавьте 80 мклраствора для элюирования в каждую лунку, содержащую контроль (NTC, C1, C2, C3) или образец. Наконечники можно использовать для дозирования раствора во все лунки до тех пор, пока наконечник не коснется планшета или дисков.

9. Инкубируйте планшет в течение 8 минут, +25°C, 700 об/мин.

10. Остановите встряхивание после инкубации и удалите супернатант из каждой лунки. **Примечание**: Будьте осторожны, не извлеките диски.

11. Увеличьте температуру шейкера до +70°C. **Примечание**: **НЕ** доставайте пластину из шейкера.

12. Как только температура шейкера достигнет +70°C, добавьте 80 мклраствора для элюирования в каждую лунку, содержащую контроль (NTC, C1, C2, C3) или образец. Наконечники можно использовать для дозирования раствора во все лунки до тех пор, пока наконечник не коснется планшета или дисков.

13. Инкубируйте планшет в течение 30 минут, +70°C, 700 об/мин.

14. Остановите встряхивание и снизьте температуру до +25°C, дайте планшету охладитьсядо температуры не менее 35°C на шейкере.

15. Приступайте к ПЦР или закройте планшет клейкой фольгой.**Примечание:** Извлеченная ДНКможет храниться при температуре +2-+8°C в течение 48 часов в закрытом планшете.

16. Визуально проверьте планшет для экстракции и убедитесь, что все лунки одинаково заполнены и что в каждой из них имеется по одному DBS (за исключением лунок с NTC). **Укажите лунку, в которой отсутствует раствор/DBS или в которой находится два DBS, или DBS не полностью погружен в раствор, так как это может стать причиной плохой экстракции ДНК или ее отсутствия.**

ПРИМЕЧАНИЯ К МЕТОДИКЕ

1. В лабораториях должно быть не менее трех физически разделенных рабочих зон: зона подготовки ПЦР для приготовления реакционной ПЦР-смеси, зона обработки образцов для выбивания образцов и экстракции ДНК и зона для амплификации и обнаружения ПЦР-продукта. В случае отсутствия трех отдельных лабораторных помещений вытяжки или вытяжного шкафа с насадками для ультрафиолетового излучения могут обеспечить чистую зону подготовки ПЦР, а вытяжки или вытяжные шкафы могут быть размещены в одной зоне обработки образцов, используемой для выбивания образцов и извлечения ДНК. Зона, используемая для амплификации и обнаружения продукта (зона ПЦР), должна быть отделена от зон подготовки ПЦР и обработки образцов.

2. Чтобы предотвратить заражение, лаборатории должны внедрить рабочий процесс, который сводит к минимуму переход от «грязных» к «чистым» зонам во время работы ПЦР. Чистой зоной являются зона подготовки ПЦР и зона обработки образцов без продукта амплификации, и где настраиваются реакции амплификации. К грязной зоне относится зона, где происходит амплификация и работа с ее продуктами, а также используются методы обнаружения ПЦР. Также при регулярной уборке лабораторных помещений следует учитывать рабочий принцип — от «чистого» к «грязному».

3. Закрывайте контейнеры с реагентами сразу после использования, чтобы избежать воздействия возможных источников загрязнения и испарения реагента.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Перед использованием храните планшеты для экстракции ДНК в оригинальной упаковке. Избегайте контакта с возможными источниками загрязнения.

5. Для выбивания можно предпринять специальные меры или могут использоваться антистатические инструменты для нейтрализации статических зарядов, которые могут помешать выбиванию. Примеры мер, уменьшающих статические заряды:

   a) Относительная влажность зоны для выбивания должна быть выше 30%.

   b) Выньте планшеты для экстракции ДНК из упаковки и поместите их на лабораторный стол не менее чем за 30 минут до использования. Затем используйте ионизирующее устройство для обработки планшета и поместите планшет под панчер.

   c) Оставьте образцы DBS в своих упаковках при комнатной температуре (+19-+25°C) не менее, чем на 30 минут.

   d) Поместите ионизирующее устройство сбоку от зоны выбивания. Поместите планшет и контроли набора рядом с устройством на пару секунд непосредственно перед выбиванием. Другие примеры антистатических инструментов или оборудования: антистатический пистолет, антистатические коврики и браслеты, антистатические лабораторные халаты, антистатические перчатки и антистатическая обувь. Кроме того, для обработки поверхностей рабочей зоны и наружных поверхностей панчера в зоне пробивки можно использовать антистатический спрей.

   e) Не производите выбивание сразу после включения панчера.

   f) Ежедневно проводите очистку панчера для уменьшения статических зарядов и - перекрестного загрязнения образца.

6. Внимательно изучите данный вкладыш для правильного применения данного набора. Реактивы, поставляемые с этим набором, предназначены исключительно для совместного использования. Не смешивайте одинаковые реагенты из наборов, имеющих разные номера партий. Не используйте реагенты набора после истечения срока годности, указанного на этикетке набора.

7. Любое отклонение от методики количественного анализа может повлиять на результаты.

8. Лаборатории должны следовать местным нормативным актам и надлежащей практике утилизации планшетов для экстракции, включающих диск с образцами и пробы, чтобы избежать загрязнения. Утилизация пятен крови должно производиться в соответствии с местным нормативными актами и политикой учреждения.

9. Панчер и пробивочная головка необходимо регулярно очищать. Выполняйте ежедневное техническое обслуживание в соответствии с инструкциями производителя.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Условия, которые вызывают аномальные результаты аналитического анализа:
- образец, не равномерно насыщенный кровью
- диск с образцом выбит слишком близко к краю пятна крови
- плохо собранные и неправильно высушенные образцы
- неэлюирующее пятно крови из-за ухудшения качества образца, вызванного воздействием тепла и влажности
- перекрестное загрязнение образца во время выбивания

См. также раздел «ПРИМЕЧАНИЯ К МЕТОДИК».

ГАРАНТИЯ

Представленные здесь данные о характеристиках были получены с использованием указанной методики количественного анализа. Любые изменения или модификации методики количественного анализа, не рекомендованные производителем, могут повлиять на результаты, и в этом случае компания WallacOy и ее филиалы не несут ответственность по явно выраженным, подразумеваемым или установленным законом гарантийным обязательствам, включая, в том числе по гарантиям товарного качества и соответствия назначению.

WallacOy, ее филиалы и уполномоченные дистрибьюторы в таком случае не несут ответственности за косвенный ущерб.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] CLSI (2013): Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard - Sixth Edition. CLSI document NBS01-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[2] Dissing, J. et al. (2010): Exploring the limits for survival of DNA in blood stains. J ForensicLegMed17, 392-396.

[3] CLSI (2005): Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline; CLSI document MM13-A. Wayne, PA: ClinicalandLaboratoryStandardsInstitute.

[4] Chaisomchit, S. et al. (2005): Stability of genomic DNA in dried blood spots stored on filter paper. SEA J TropMed PH. 36(1), 270-273.

[5] Hollegaard, M.V. et al. (2011): Robustness of genome-wide scanning using archived dried blood spot samples as a DNA source. BMC Genetics. 12(58), 1-7.

[6] CLSI (2013): Newborn Blood Spot Screening for Severe Combined Immunodeficiency by Measurement of T-cell Receptor Excision Circles; Approved Guideline. CLSI document NBS06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[7] Hollegaard, M.V. et al. (2013): Archived neonatal dried blood spot samples can be used for accurate whole genome and exome-targeted next-generation sequencing. MolGenetMetab. 110(1-2), 65-72.

[8] Grauholm, J. et al. (2015): Gene expression profiling of archived dried blood spot samples from the Danish Neonatal Screening Biobank. MolGenetMetab. 116(3), 119124.

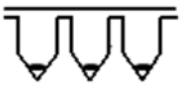
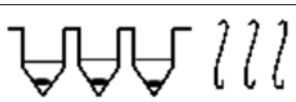
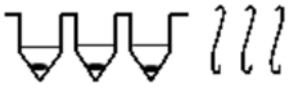
Апрель 2020

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Набор Eonis™ DNA Extraction kit

Краткое изложение протокола анализа

Продезинфицируйте лабораторное оборудование.
Поместите образцы и контрольные карточки набора в зону выбивания. Оставьте их в своих упаковках и дайте им достигнуть комнатной температуры (+19°C-+25°C) не менее чем за 30 минут до использования.

1. Выбейте контроли DBS и образцы		Выбейте 3,2-миллиметровые диски из фильтровальной бумаги с контролями и образцами DBS в лунки планшета для экстракции ДНК в соответствии с предварительно заданной схемой планшета.
2. Проверьте визуально, чтобы в каждой лунке был диск в соответствии со схемой		Рекомендуется закрыть планшет клейкой фольгой при переносе на следующее место.
3. Центрифугируйте		Центрифугируйте кратковременно и аккуратно снимите клейкую фольгу. **Примечание**: Этот шаг можно пропустить, если планшет не был закрыт.
4. Добавьте промывочный раствор		80 мкл/лунка
5. Инкубируйте		8 минут, +25°C, 700 об/мин
6. Удалите супернатант		**Примечание**: Будьте осторожны, не извлеките диски.
7. Повторите шаги 4-6 с раствором для элюирования.		80 мкл/лунка
8. Увеличьте температуру до +70°C		+70°C. **Примечание**: **Не** доставайте пластину из шейкера.
9. Добавьте раствор для элюирования		80 мкл/лунка
10. Инкубируйте		30 минут, +70°C, 700 об/мин
Остудите и приступите к настройке ПЦР или поместите на хранение при температуре +2-+8°C в течение 48 часов в закрытом планшете		Остановите встряхивание, установите темпертатуру шейкера на +25°C и дайте планшету охладиться не менее, чем до 35°C на шейкере. Визуально проверьте планшет.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru