Версия 1-2020

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный Директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____ А.Г. Плехов

«__» _____ 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для количественного иммуноферментного определения
антигена HE4
в сыворотке крови человека

«HE4-Имаксиз (IMAXYZ)»
ТУ 21.20.23-056-94568735-2020

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения антигена HE4 в сыворотке крови человека «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для количественного определения концентрации опухолевого маркера HE4 (далее HE4) в сыворотке крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для лабораторной in vitro диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора — комплексная диагностика эпителиального рака яичников и мониторинг ранее диагностированного рака яичников, диагностика, оценка прогноза и контроля лечения рака яичника и эндометрия. Противопоказаний нет.

Функциональное назначение набора — определение концентрации HE4 в сыворотке крови, предназначенное для диагностики, оценки прогноза и контроля лечения рака яичника и эндометрия.

1.3. HE4 (синонимы – human epididymis protein 4, WFDC2) – небольшой протеин с молекулярной массой 20–25 кДа, относящийся к семейству WAP-белков (whey acidic protein) – ингибиторов протеаз, содержащих 4 дисульфидных связи в коровой части. Первоначально он был обнаружен в дистальных отделах эпителия протока придатка яичника (эпидидимального протока), откуда и произошло название *человеческий эпидидимальный протеин*. Впоследствии стало известно, что HE4 также образуется во многих других тканях (железистого эпителия молочной железы, женской и мужской репродуктивных систем, дистальных почечных канальцев, толстой кишки, слюнных желез).

Повышенный синтез HE4 характерен для некоторых злокачественных опухолей (мезотелиомы, рака легкого, почек, молочной железы, эндометрия, злокачественных образований желудочно-кишечного тракта), что позволяет использовать этот белок в качестве онкомаркера. Наибольшее значение HE4 имеет в диагностике, оценке прогноза и контроле лечения опухолей яичника и эндометрия.

В настоящее время в комплексной диагностике при подозрении на рак яичников и в мониторинге ранее диагностированного рака яичника обычно используют маркер CA 125. Проблемой остается недостаточная чувствительность и специфичность этого онкомаркера: повышенный уровень CA 125 может отмечаться и при опухолях другого происхождения, а также различных доброкачественных заболеваниях. HE4, по результатам исследований, обладает более высокой специфичностью, чем CA 125 в группе доброкачественных (негинекологических и гинекологических) заболеваний, а также в дифференциации рака яичников от других злокачественных, но не овариального происхождения, заболеваний. По данным доказательных исследований, в качестве единственного маркера он проявляет чувствительность 72,9%, специфичность 95%. Применение комплекса тестов HE4 и CA 125 позволяет снизить количество ложноположительных результатов лабораторного обследования, сравнительно с использованием только CA 125. HE4 является лучшим маркером на I стадии болезни (чувствительность составляет до 75% (для CA 125 — только 40%)).

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

При выявлении у женщин образований в малом тазу расчет риска злокачественной опухоли яичника рекомендуется проводить с использованием индекса ROMA, учитывающего соотношение маркеров СА 125 и HE4 в пре- и постменопаузе.

1.4. Набор реагентов «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» может быть использован для обследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.5. В состав набора входят следующие компоненты:

- микропланшет – 1 упаковка;
- конъюгат – 1 флакон (14 мл);
- комплект калибровочных проб – 6 флаконов (лиофилизованные или жидкости по 0,5 мл);
- контрольная сыворотка – 1 флакон (лиофилизованные или жидкость 0,5 мл);
- Буфер Р – 1 флакон (3 мл);
- Буфер В – 1 флакон (14 мл);
- раствор ТМБ – 1 флакон (14 мл);
- стоп-реагент – 1 флакон (14 мл);
- Буфер П – 2 флакона (по 20 мл);
- пакет закрывающийся – 1 шт.;
- пленка для заклеивания микропланшета – 2 шт.;
- ванночки для внесения реагентов – 2 шт.;
- одноразовые наконечники для дозаторов – 16 шт.

1.6. Набор «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора тетраметилбензидина (ТМБ), всего 96 определений при использовании всех стрипов одновременно.

В случае дробного применения необходима обязательная постановка всех калибровочных проб для каждого отдельного анализа.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. В наборе «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» использована технология количественного «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с высокоаффинной стрептавидин-биотиновой системой. Для реализации этого варианта на внутренней поверхности лунок микропланшета иммобилизован стрептавидин, с которым связаны биотинилированные моноклональные антитела к HE4. Другие моноклональные антитела к HE4 конъюгированы с пероксидазой. Во время инкубации происходит связывание HE4, содержащегося в образцах, контрольных материалах и калибровочных пробах с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок и взаимодействие связавшегося HE4 с моноклональными антителами, меченными пероксидазой. Оба моноклональных антитела имеют разную эпитопную специфичность к HE4, что позволяет использовать их для реализации высокоспецифичного анализа.

По окончании инкубации во время промывки происходит удаление всех несвязавшихся компонентов из зоны реакции.

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание в синий цвет раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации HE4 в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (при этом цвет раствора меняется с синего на желтый). Измеряют оптическую плотность раствора в лунках и проводят расчет концентрации HE4 в исследуемых образцах и контрольных материалах по калибровочному графику.

Калибровочный график строится на основании результатов анализа калибровочных проб, участвующих в анализе одновременно с исследуемыми образцами.

2.2. Набор «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» может быть использован на фотометрах вертикального сканирования, позволяющих производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм. Для проведения анализа необходим автоматический промыватель для микропланшетов или дозирующее устройство и прибор для встряхивания микропланшета (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 500–800 об/мин при температуре +37 °С. Набор может быть использован на автоматических иммуноферментных анализаторах. Программы адаптации на автоматические анализаторы предоставляются по запросу.

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

3. СОСТАВ НАБОРА

МИКРОПЛАНШЕТ — **1 упаковка**

Разборный полистирольный микропланшет со стрипами, разделяемыми на отдельные лунки, с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к HE4, маркирован «Микропланшет с антителами к HE4».

КОНЪЮГАТ — **1 флакон, 14 мл**

Коньюгат моноклональных антител к HE4 с пероксидазой, маркирован «Конъюгат».

КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ (КП) — **комплект**

Лиофилизованные или жидкости

Комплект калибровочных проб на основе водно-солевого буфера, изготовленных гравиметрическим методом и аттестованных по внутреннему референсному стандарту производства АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», изготовленного с использованием HE4 (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%).

КП № 1 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество HE4, маркирован «Калибровочная проба № 1».

КП № 2 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество HE4, маркирован «Калибровочная проба № 2».

КП № 3 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество HE4, маркирован «Калибровочная проба № 3».

КП № 4 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество HE4, маркирован «Калибровочная проба № 4».

КП № 5 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество HE4, маркирован «Калибровочная проба № 5».

КП № 6 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество HE4, маркирован «Калибровочная проба № 6».

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА (КС) — **1 флакон, 0,5 мл**

Лиофилизованная или жидкость

Контрольная сыворотка на основе водно-солевого буфера, изготовленная гравиметрическим методом и аттестованная по внутреннему референсному стандарту производства АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», изготовленного с использованием HE4 (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%).

Примечание

Точные номиналы калибровочных проб и контрольной сыворотки указаны на этикетках флаконов и в паспорте к набору реагентов.

БУФЕР Р — **1 флакон, 3,0 мл**

Водно-солевой раствор, маркирован «Буфер Р».

БУФЕР В — **1 флакон, 14 мл**

Водно-солевой раствор, маркирован «Буфер В».

БУФЕР П — **2 флакона, по 20 мл**

Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок (20-кратный концентрат), маркирован «Буфер П».

РАСТВОР ТМБ — **1 флакон, 14 мл**

Раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ».

СТОП-РЕАГЕНТ — **1 флакон, 14 мл**

1М соляная кислота (HCl), маркирован «Стоп-реагент».

Пакет закрывающийся — **1 шт.**

Пакет прозрачный с замком из пленки полиэтиленовой, предназначенный для хранения микропланшета с антителами к HE4 в случае дробного использования набора.

Пленка для заклеивания микропланшета — **2 шт.**

Прозрачная целлюлозная пленка на липкой основе, предназначенная для заклеивания микропланшета при проведении инкубации для предотвращения неравномерного испарения реакционной смеси из лунок микропланшета и для защиты от загрязнения.

Ванночки для внесения реагентов — **2 шт.**

Ванночки из полипропилена, предназначенные для оптимизации отбора растворов конъюгата и ТМБ 8-канальными дозаторами во избежание их контаминации.

Одноразовые наконечники для дозаторов — **16 шт.**

Конусообразные наконечники из полипропилена, предназначенные для отбора растворов конъюгата и ТМБ при помощи дозаторов.

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

Примечания

1. Материалы животного происхождения, входящие в состав компонентов набора, не представляют опасности для человека.

2. Сыворотки крови человека и компоненты сыворотки крови, входящие в состав калибровочных проб и контрольной сыворотки, инактивированы и протестированы на отсутствие антител к ВИЧ 1,2, вируса гепатита С и HBsAg.

3. Метрологическая прослеживаемость калибровочных проб и контрольной сыворотки, входящих в состав набора «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» осуществляется с использованием HE4 (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%). Калибровочные пробы и контрольная сыворотка аттестуются относительно внутренних референсных стандартов, изготовленных с использованием первичного калибратора (HE4 (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%)) в соответствии с протоколом переноса калибровки по ГОСТ ISO 17511-2011.

4. В случае если микропланшет упакован в пакет закрывающийся, дополнительный пакет в состав набора не входит.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

4.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация HE4 в сыворотке крови человека – 5 пмоль/л.

4.2. Специфичность. Моноклональные антитела, использованные в этом наборе реагентов (иммобилизованные и конъюгированные с пероксидазой), высокоспецифичны к различным эпитопам молекулы HE4. Перекрестной реакции обоих моноклональных антител с РЭА, СА 15-3, СА 19-9, СА 125, СА 72-4, СА 242, ПСА не обнаружено.

Такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин в концентрации до 5 г/л, триглицериды до концентрации 20 ммоль/л и билирубин до концентрации 50 мг/дл не влияют на правильность определения концентрации HE4 с помощью набора «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)».

Использование в наборе реагентов специфических блокирующих агентов исключает возможность получения ложноположительных результатов в сыворотках крови, содержащих гетерофильные, в том числе антимышиные (HAMA), антитела.

4.3. Точность. Соответствие измеренной концентрации HE4 в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы № 3, составляет 90–110%.

4.4. Линейность. Зависимость концентрации HE4 в образцах сыворотки крови при разведении Буфером Р, имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб № 2 – № 6 и составляет 90–110%.

4.5. Хук-эффект высоких концентраций. При использовании набора реагентов «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» хук-эффект не обнаружен до концентрации HE4 30000 пмоль/л.

4.6. Коэффициент вариации результатов определения HE4 в одном и том же образце с использованием набора «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» не превышает 8%.

4.7. Нормальные значения. Нормальные значения HE4 в крови здоровых доноров не превышали 150 пмоль/л.

При использовании набора рекомендуется уточнить значения концентраций антигена HE4, соответствующие нормальным, с учетом особенностей популяции.

4.8. Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)», установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

5.1. Исследуемые образцы – негемолизированная, прозрачная, нелипемичная сыворотка крови.

5.2. Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, а образцы сыворотки должны быть освобождены от клеток крови центрифугированием. После центрифугирования сыворотка крови должна быть перенесена в отдельную пробирку.

5.3. Следует избегать использования в анализе плазмы крови, гемолизованной, мутной или гиперлипемичной сыворотки.

5.4. Не допускается использование в качестве консерванта азида натрия, так как он является ингибитором ферментной метки, входящей в состав набора.

5.5. Образцы сыворотки крови следует использовать в течение 5 суток с момента их получения при условии хранения при температуре +2–8 °С. Для более длительного хранения образцы необходимо заморозить при температуре ниже –20 °С не более чем на 1 месяц. При необходимости более длительного хранения образцы заморозить при температуре ниже –70 °С. Избегать повторного замораживания образцов.

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

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

6.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2б.

6.2. Реагенты, входящие в состав набора, предназначены исключительно для лабораторной in vitro диагностики, набор должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

6.3. Стоп-реагент представляет собой 1 М раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые оболочки. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

6.4. В учреждениях, в которых осуществляется работа с наборами реагентов, следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

6.5. Несмотря на то, что производные крови человека, входящие в состав наборов, были проверены на наличие антител к ВИЧ 1 и 2 типа, вирусу гепатита С, а также HBsAg и дали отрицательный результат, необходимо с калибраторами и контрольными материалами обращаться как с образцами, несущими инфекционную опасность, так как ни один существующий метод тестирования не может на 100% гарантировать отсутствие инфекционных агентов. При работе с исследуемыми образцами пациентов следует соблюдать меры предосторожности как в отношении инфекционно опасного материала. Настоятельно рекомендуется использование одноразовых перчаток и других рекомендованных мер защиты (спецодежды), позволяющих снизить риск инфицирования.

6.6. Все материалы, контактировавшие с образцами крови пациентов, контрольными и калибровочными материалами, должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при +121 °С или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо лабораторным дезинфектантом). Жидкие отходы, включая промывочные воды, должны быть инактивированы в соответствии с инструкцией каким-либо лабораторным дезинфектантом, предназначенным для этих целей.

6.7. Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва и возгорания) отсутствуют.

6.8. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами реагентов.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- одно- или многоканальные дозаторы с изменяемым объемом отбора жидкостей в диапазонах 10–100 мкл, 50–300 мкл для постановки анализа и в диапазонах 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл, 1000–10000 мкл для приготовления реагентов;
- одноразовые наконечники для дозаторов;
- ванночки для внесения реагентов;
- фотометр вертикального сканирования, позволяющий производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм;
- автоматический промыватель для планшетов или дозирующее устройство;
- прибор для встряхивания микропланшета (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 500–800 об/мин при температуре +37 °С;
- фильтровальная бумага;
- цилиндр мерный на 200 мл;
- стакан стеклянный вместимостью 500 мл;
- вода деионизованная или дистиллированная;
- перчатки одноразовые.

8. ПОДГОТОВКА

8.1. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры +18–25 °С.

8.2. Микропланшет. Перед вскрытием упаковку с микропланшетом необходимо выдержать при комнатной температуре +18–25 °С не менее 30 минут во избежание конденсации влаги на поверхности лунок. Открыть упаковку и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов или лунок. Оставшиеся стрипы хранить в упаковке и в пакете закрывающемся с герметично закрытым замком при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

8.3. Предварительное разведение исследуемых образцов. Если значения HE4 в исследуемых образцах по предварительным данным выше значения концентрации калибровочной пробы № 6, образцы следует развести Буфером Р в 20 раз:

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

190 мкл Буфера Р + 10 мкл исследуемого образца.

Тщательно перемешать.

8.4. Приготовление промывочного буфера. Необходимое количество Буфера П развести дистиллированной водой в 20 раз.

Например:

10 мл Буфера П + 190 мл деионизованной или дистиллированной воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования. Готовый к использованию промывочный буфер хранить закрытым при комнатной температуре +18–25 °С не более 5 суток. Оставшийся неиспользованным 20-кратный Буфер П хранить закрытым при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

8.5. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка.

Перед вскрытием флаконов с ***лиофилизованными*** калибровочными пробами и контрольной сывороткой стряхнуть частицы лиофилизованного порошка, прилипшие к стенкам флаконов и крышкам. Аккуратно открыть флаконы и положить пробки перевернутыми на сухую поверхность. В каждый флакон внести по 0,5 мл деионизованной воды, закрыть флаконы крышками и выдержать в течение 20 минут при комнатной температуре (+18-25°С). Перемешать содержимое флаконов, аккуратно наклоняя и вращая их, избегая пенообразования.

Жидкие калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

8.6. Конъюгат, Буфер В, раствор ТМБ и стоп-реагент готовы к использованию.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ТМБ	ТМБ	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
B	КП1	КП1	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
C	КП2	КП2	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
D	КП3	КП3	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
E	КП4	КП4	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
F	КП5	КП5	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
G	КП6	КП6	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
H	КС	КС	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40

9.2. Во все лунки, кроме А1 и А2, внести по 100 мкл Буфера В.

9.3. Внести в соответствующие лунки по 20 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки по 20 мкл исследуемой сыворотки крови в дубликатах. Общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов не должно превышать 20 минут.

9.4. Заклеить лунки микропланшета пленкой, входящей в состав набора.

9.5. Инкубировать микропланшет при встряхивании в течение 30 минут в термостатируемом шейкере при температуре +37 °С со скоростью 500–800 об/мин.

9.6. По окончании инкубации удалить пленку, удалить содержимое лунок в специальную емкость для сбора инфицированного материала и промыть лунки пять раз. При каждой промывке во все лунки добавить по 300 мкл промывочного буфера, приготовленного по п. 8.4. с последующим удалением жидкости в емкость для инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием микропланшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге до исчезновения следов наличия жидкости в лунках. При использовании автоматического промывающего устройства тщательно следить за точностью наполнения и полнотой удаления жидкости из лунок микропланшета.

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

9.7. Во все лунки, кроме А1 и А2, внести по 100 мкл Конъюгата.

9.8. Заклеить лунки микропланшета пленкой, входящей в состав набора. Не применять повторно пленку, использовавшуюся на первой стадии анализа!

9.9. Инкубировать стрипы согласно п. 9.5.

9.10. По окончании инкубации удалить пленку, удалить содержимое лунок и промыть лунки согласно п. 9.6.

9.11. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать микропланшет в темноте. Возможны 2 варианта инкубации с ТМБ:

– инкубировать микропланшет в течение 10 минут в темноте **при встряхивании** в термостатируемом шейкере **при температуре +37 °С** со скоростью 500–800 об/мин;

– инкубировать микропланшет в течение 15–30 минут, в зависимости от степени развития окраски, в темноте **без встряхивания при комнатной температуре +18–25 °С.**

9.12. Остановить ферментную реакцию добавлением в каждую лунку по 100 мкл стоп-реагента. Цвет реакционной смеси в лунках должен измениться с синего на желтый. Встряхнуть на шейкере в течение 1–2 мин для равномерного перемешивания. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 минут.

9.13. В случае дробного использования микропланшета необходимо разделить микропланшет на стрипы и использовать при проведении анализа необходимое количество стрипов.

Примечание

Максимальная ОП при проведении ферментной реакции не должна превышать пределов линейного измерения прибора, используемого в лаборатории. Диапазон линейности измерения необходимо уточнить в паспорте прибора. Рекомендуемая максимальная оптическая плотность – не более 2,5 ед. ОП.

Схема проведения анализа приведена на Рисунке 1.

10. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1. Измерить на фотометре вертикального сканирования ОП раствора в лунках при длине волны 450 нм.

10.2. Определить среднее значение ОП в лунках А1 и А2 (контроль ТМБ) и вычесть его из среднего значения ОП калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых образцов.

11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

11.1. Результаты анализа следует учитывать, если среднее значение ОП в лунках А1 и А2 не превышает 0,1 ед.ОП.

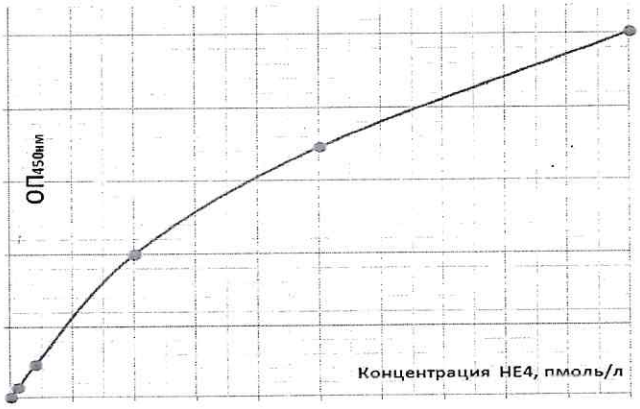
11.2. В линейных координатах построить график зависимости ОП (ед.опт.плотн.) от концентрации HE4 в калибровочных пробах (пмоль/л), используя средние значения ОП дубликатов.

11.3. Определить содержание HE4 в исследуемых образцах и контрольной сыворотке по калибровочному графику, используя среднее значение ОП для дубликатов.

11.4. При наличии автоматической программы расчета на фотометре в качестве метода аппроксимации калибровочной кривой выбрать метод 4PL, 5PL или кубический сплайн.

На рисунке 2 приведен типичный график зависимости ОП калибровочных проб от концентрации в них HE4. Данный график приведен исключительно в целях иллюстрации и не может быть использован для расчета концентрации HE4 в образцах сывороток пациентов. Внешний вид графика зависит от выбранного метода аппроксимации.

Рисунок 2



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

12. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНАЛИЗА

12.1. При использовании набора для проведения нескольких независимых серий анализов необходимо иметь в виду, что количество независимых экспериментов ограничено объемом калибровочных проб.

12.2. Для каждого независимого эксперимента настоятельно рекомендуется построение нового калибровочного графика и определение концентрации аналита в контрольной сыворотке.

12.3. Не допускается использование реагентов разных серий при проведении анализа, а также использование ТМБ, стоп-реагента и промывочного буфера других фирм-производителей.

12.4. После окончания внесения реагентов необходимо плотно закрыть крышки флаконов и поместить их на хранение при температуре +2–8 °С.

12.5. Основной причиной ложноположительных результатов HE4 при доброкачественных видах патологии является **почечная недостаточность**, поэтому результаты HE4 при повышенном уровне креатинина следует интерпретировать с осторожностью.

12.6. Пациенты с подтвержденным раком яичников могут иметь значения измеренных концентраций HE4 в тех же диапазонах, что и здоровые женщины. Некоторые гистологические типы рака яичников, например коллоидный или гермальный, редко экспрессируют HE4, поэтому HE4 не рекомендуется для мониторинга таких пациентов. И наоборот, повышенные уровни антигена HE4 могут присутствовать у людей с незлокачественными образованиями. Следовательно, уровень HE4 не может быть использован в качестве абсолютного доказательства на наличие или отсутствие злокачественного заболевания и тест HE4 **не может быть использован для скрининга**.

Результаты теста должны интерпретироваться только в сочетании с другими исследованиями и процедурами при диагностике и мониторинге заболевания, а исследование пациентов на HE4 не должно заменять другие клинические методы обследования.

13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

13.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения антигена HE4 в сыворотке крови человека «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

13.2. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2–8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25 °С не более 10 суток.

13.3. Замораживание компонентов не допускается. Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

14. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

14.1. Срок годности набора — 24 месяца. До окончания срока годности набора реагентов, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических характеристик набора заявленным. Не допускается использование набора реагентов по истечению срока годности. Набор реагентов не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

14.2. В случае дробного использования компоненты набора необходимо после вскрытия хранить следующим образом:

- стрипы микропланшета поместить в упаковку с этикеткой (если стрипы упакованы в упаковку из 2-слойного полиэтилена), которую затем вложить в пакет закрывающийся и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;
- жидкие калибровочные пробы и контрольные сыворотки после вскрытия флаконов, хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после восстановления из лиофилизата хранить не более 1 месяца при температуре +2...8°С, при необходимости длительного хранения – аликвотировать и заморозить при температуре ниже -20°С, избегать повторных циклов замораживания/размораживания;
- конъюгат, Буфер В, Буфер Р, концентрированный Буфер П, раствор ТМБ и стоп-реагент, после вскрытия флаконов, хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;
- промывочный буфер, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре +18–25 °С не более 5 суток. Не добавлять в емкость с используемым промывочным раствором вновь приготовленный раствор.

14.3. Производитель набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» произвел верификацию и валидацию набора «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)». Результаты верификации и валидации, отраженные

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

в протоколах предварительных испытаний опытных партий набора, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

14.4. В процессе верификации и валидации набора «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» была проведена оценка стабильности набора при хранении, использовании и транспортировке (ГОСТ Р ИСО 23640-2015); результаты, отраженные в протоколах стабильности набора и его компонентов, соответствуют заявленным срокам годности при хранении, использовании и транспортировке в соответствующих условиях.

14.5. В процессе разработки набора «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» были оценены риски, связанные с возможным изменением параметров проведения анализа в лабораториях потребителей: изменение температуры инкубации, скорости вращения шейкера и времени раскапывания образцов. Оценка проводилась в соответствии с МИ СМК 07 по ИСО 14971:2007 «Медицинские изделия – Применение менеджмента риска к медицинским изделиям». По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

14.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

14.7. Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил при работе с набором реагентов:

– для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие воздействия на реагенты, используемые при проведении ИФА, например, комбинированные средства на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор, а также альдегиды в помещениях, используемых для постановки ИФА, может приводить к получению неправильных результатов анализа;

– поскольку наличие паров кислот, щелочей, альдегидов может менять ферментативную активность конъюгатов и ТМБ, нельзя проводить анализ при наличии в воздухе рабочей зоны таких соединений;

– стадия, когда проводится реакция окрашивания с ТМБ, чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому контакт каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ может изменить ход реакции;

– используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца во избежание микробной контаминации компонентов набора и значительного снижения сроков хранения компонентов, входящих в его состав;

– запрещается использование одной и той же емкости для конъюгата и раствора ТМБ во избежание их перекрестной контаминации и искажения результатов анализа;

– при частичном отборе раствора ТМБ из флакона следует учитывать тот факт, что загрязнение поверхности пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с ТМБ и, как следствие, изменению его цвета;

– если допущена ошибка при внесении реагентов или образцов в лунку, нельзя, удалив неправильно внесенные реагенты, вносить в нее новый реагент; такая лунка должна быть исключена при учете результатов анализа;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом или специальными растворами на основе спиртов (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих и альдегидсодержащих растворов);

– в связи с тем, что качество промывки лунок микропланшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа, то для удаления не связавшихся компонентов реакции из лунок микропланшета и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывающее устройство и контролировать равномерность и качество наполнения лунок, а также полноту удаления из них жидкости.

15. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.27910 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.27910 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

16. ЗАЩИТА ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)» для иммуноферментного анализа разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор, в процессе использования, не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

17. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора «HE4-Имаксиз (IMAXYZ)», следует обращаться к производителю — в Акционерное Общество «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн») по адресу:

194356, Россия, Санкт-Петербург, дорога в Каменку, д. 56, лит. А
Тел./факс +7 812 702-10-86.

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

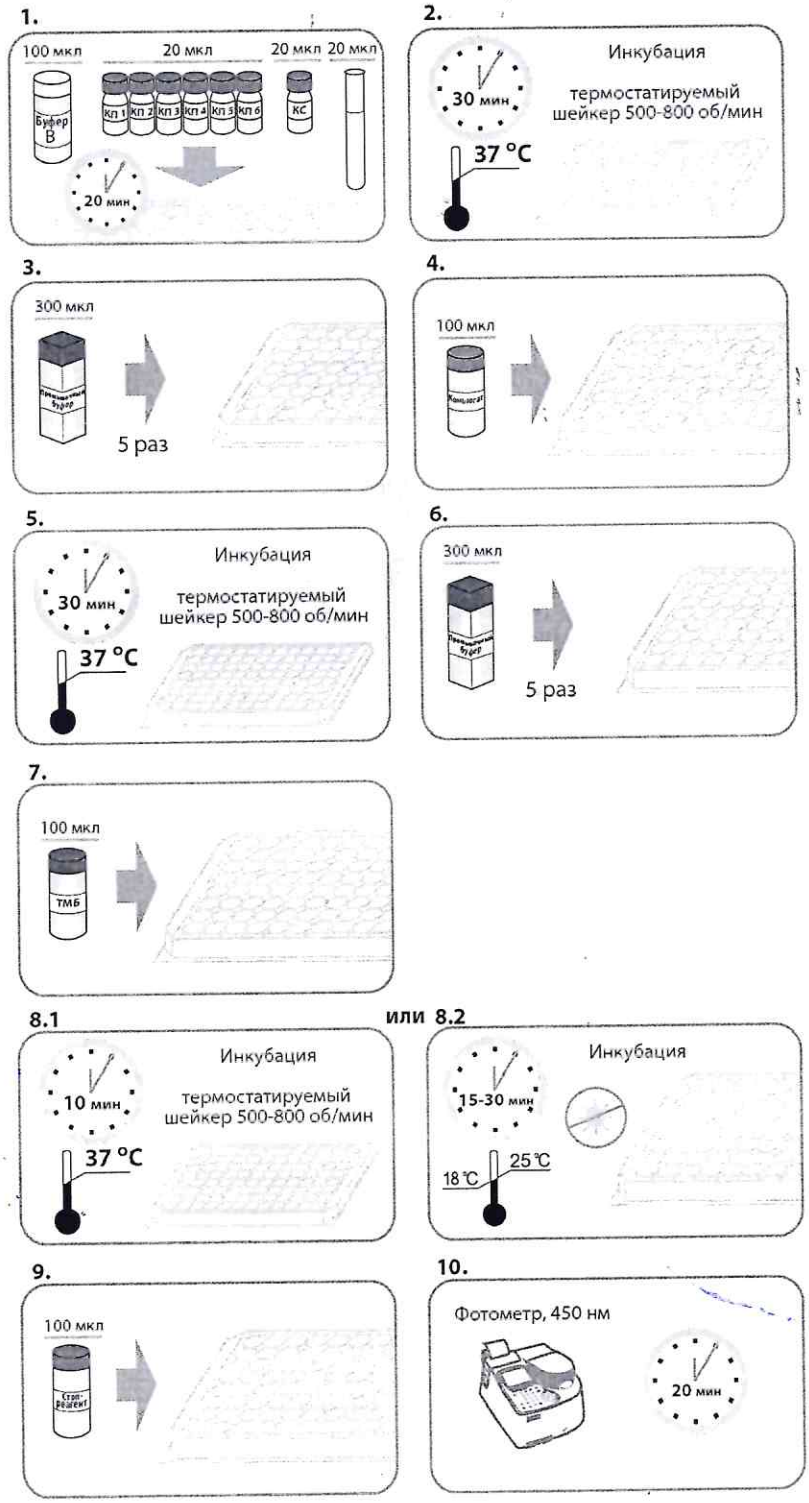
29 МАЙ 2020

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ ОГРН 1127746392574 * МОСКВА * ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР

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

Рисунок 1

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА



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

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 11 листа(ов)

Ген. директор Плехов А.Г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ

«25» МАЙ 2020 201 год

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

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