

# НАБІР РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ПАНЕЛІ ПОТРІЙНОГО СКРИНІНГУ VAST: АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕЇНУ, ХОРИОНІЧНОГО ГОНАДОТРОПІНУ ЛЮДИНИ ТА НЕКОН'ЮГОВАНОГО ЕСТРІОЛУ МЕТОДОМ ІФА

## Alpha-Fetoprotein (AFP), Human Chorionic Gonadotropin (hCG), Unconjugated Estriol (uE3) (Triple Screen Panel VAST) Test System

Кат. №: 8525-300B

Дата випуску інструкції: 30-03-2022

Версія: 6



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

### 1.0 ПРЕДСТАВЛЕННЯ

**Призначення:** Кількісне визначення концентрацій Альфа-фетопротеїну (АФП), β-хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) та некон'югованого Естріолу (ЕЗ) у сироватці або плазмі людини за допомогою мікропланшетного ферментного імуноаналізу, колориметричного.

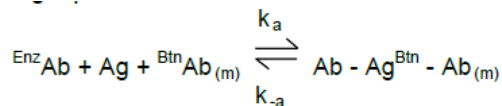
### 2.0 ВСТУП (Див. оригінал інструкції).

### 3.0 ПРИНЦИП МЕТОДУ

#### Імуноферментний аналіз (ТИП 3 для ХГЛ - АФП):

Основні реагенти, необхідні для імуноферментного аналізу, включають антитіла з високою спорідненістю та специфічністю (ферментні та іммобілізовані), з різним і чітким розпізнаванням епітопів, у надлишку, і нативний антиген, біотинильоване (АФП/ХГЛ) антитіло.

Після додавання біотинильованого антитіла, міченого ферментом антитіла та сироватки, що містить нативний антиген, відбувається реакція між нативним антигеном та антитілами, без конкуренції та стеричних перешкод, з утворенням розчинного сандвіч-комплексу. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням для АФП та ХГЛ.



$\text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(m)}$  = Біотинильоване моноклональне антитіло (Надлишкова кількість)

Ag = Нативний антиген (Змінна кількість)

$\text{Enz}^{\text{Ab}}$  = Ферментно-мічене антитіло (Надлишкова кількість)

$\text{Enz}^{\text{Ab}} - \text{Ag} - \text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(m)}$  = Сандвіч-комплекс антиген-антитіла

$k_a$  = Коефіцієнт швидкості асоціації

$k_{-a}$  = Коефіцієнт швидкості дисоціації

Одночасно комплекс осідає в лунці через реакцію високої спорідненості стрептавідину та біотинильованих антитіл. Ця взаємодія проілюстрована нижче:



Стрептавідин<sub>CW</sub> = Стрептавідин, іммобілізований в лунках

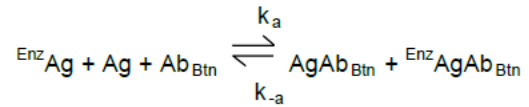
Іммобілізований комплекс = сандвіч-комплекс, пов'язаний з твердою поверхнею.

Після досягнення рівноваги фракція, пов'язана з антитілами, відокремлюється від незв'язаного антигену декантацією або аспірацією. Активність ферментів у зв'язаній з антитілами фракції прямо пропорційна концентрації нативного антигену для АФП та ХГЛ. За допомогою декількох різних сироваткових референсів з відомими значеннями антигену може бути сформована крива реакції на дозу, з якої можна встановити концентрацію невідомого антигену.

### Конкурентний імуноферментний аналіз (ТИП 7) для ЕЗ:

Основні реагенти, необхідні для імуноферментного аналізу, включають антитіло, кон'югат фермент-антиген та нативний антиген.

При змішуванні біотинильованого антитіла, кон'югату фермент-антиген та сироватки, що містить нативний антиген, виникає реакція конкуренції між нативним антигеном та кон'югатом фермент-антиген за обмежену кількість сайтів зв'язування антитіл. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:



$\text{Ab}_{\text{B}^{\text{tn}}}$  = Біотинильоване антитіло (Постійна кількість)

Ag = Нативний антиген (Змінна кількість)

$\text{Enz}^{\text{Ag}}$  = Кон'югат фермент-антиген (Постійна кількість)

$\text{AgAb}_{\text{B}^{\text{tn}}}$  = Комплекс антиген-антитіло

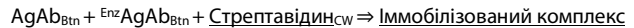
$\text{Enz}^{\text{Ag}}\text{Ab}_{\text{B}^{\text{tn}}}$  = Кон'югат фермент-антиген-Комплекс антитіл

$k_a$  = Коефіцієнт швидкості асоціації

$k_{-a}$  = Коефіцієнт швидкості дисоціації

$K = k_a/k_{-a}$  = Постійна рівноваги

Виникає одночасна реакція між біотином, прикріпленим до антитіла, та стрептавідином, іммобілізованим у мікролунці. Це впливає на поділ фракції, пов'язаної з антитілами, після декантації або аспірації.



Стрептавідин<sub>CW</sub> = Стрептавідин, іммобілізований в лунках

Іммобілізований комплекс = сандвіч-комплекс, пов'язаний з твердою поверхнею.

Активність ферментів у фракції, пов'язаній з антитілами, обернено пропорційна концентрації нативного антигену. За допомогою декількох різних сироваткових референсів з відомими значеннями антигену може бути сформована крива реакції на дозу, з якої можна встановити концентрацію невідомого антигену.

### 4.0 РЕАГЕНТИ

#### Матеріали, що постачаються: (Реагенти для 2x96 лунок мікропланшетів)

#### A. Combi-Cal™ АФП/ЕЗ/ХГЛ - 1 мл (мл)/флакон (ліофілізований)

Розведіть кожен флакон з 1 мл (мл) дистильованої або деіонізованої води. Відновлені калібратори стабільні протягом одного (1) року при 2-8 °C (°C).

Калібратор	АФП <sup>1</sup>	ХГЛ <sup>2</sup>	ЕЗ <sup>3</sup>
A	0	0	0
B	10	10	0.5
C	25	25	1.0
D	75	50	2.5
E	150	100	10
F	400	250	20
Одиниці	нг/мл (ng/ml)	мМО/мл (mIU/ml)	нг/мл (ng/ml)

<sup>1</sup>АФП відкалібрований проти 1-го IRP 72/225 ВООЗ

<sup>2</sup>ХГЛ відкалібрований проти 3-го IS 75/537 ВООЗ

<sup>3</sup>ЕЗ, приготовлений гравіметрично з 99+% чистих препаратів Калібратори ЕЗ можна виразити в молярних концентраціях (нМ/л (nM/l)), помноживши на 3.45.

Наприклад: 1 нг/мл (ng/ml) x 3.45 = 3.45 (нМ/л (nM/l))

#### B. Ферментний реагент АФП - 13 мл (мл)/флакон

Один (1) флакон містить мічене ферментом антитіло, біотинильований моноклональний мишачий IgG у буфері, жовтий барвник та консервант. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

#### C. Ферментний реагент ХГЛ - 13 мл (мл)/флакон

Один (1) флакон містить мічене ферментом антитіло, біотинильований моноклональний мишачий IgG у буфері, синій барвник та консервант. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

#### D. Ферментний реагент ЕЗ - 6 мл (мл)/флакон

Один (1) флакон містить кон'югат Естріол (аналог)-пероксидаза хрому (HRP) у стабілізуючій білок матриці з червоним барвником. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

#### E. Біотиновий Реагент ЕЗ - 6 мл (мл)/флакон

Один (1) флакон містить мічений біотином специфічний біотинильований афінний очищений кролячий IgG у буфері, синій барвник та консервант. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

**F. Мікропланшет з нанесеним стрептавідином - 1 або 2 x 96 лунок (див. Таблицю 14)**

Один або два мікропланшети на 96 лунок, покритий стрептавідином та упакований в алюмінієвий пакет із сушильним агентом. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

**G. Концентрат Промивного розчину - 20 мл (мл)/флакон**

Один (1) флакон містить ПАР у забуференому сольовому розчині. Додано консервант. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

**H. Розчинник зразка - 40 мл (мл) або 75 мл (мл)/флакон (див. Таблицю 14)**

Один (1) флакон містить нормальну сироватку людини, яка не містить ХГЛ, стабілізовану консервантами.

**I. Субстрат А - 1 або 2 x 7 мл (мл)/флакон**

Один (1) або два (2) флакони, що містить тетраметилбензидин (ТМБ) у буфері. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C). Див. «Приготування реагенту».

**J. Субстрат В - 1 або 2 x 7 мл (мл)/флакон**

Один (1) або два (2) флакони, що містить перекис водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) у буфері. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C). Див. «Приготування реагенту».

**K. Стоп-розчин - 1 або 2 x 8 мл (мл)/флакон**

Один (1) або два (2) флакони, що містить сильну кислоту (1N HCl). Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

**L. Інструкція**

**Зауваження 1:** Не використовуйте реагенти з вичерпаним терміном придатності.

**Зауваження 2:** Уникайте тривалого впливу тепла та світла. Відкриті реагенти стабільні протягом шістдесяти (60) днів при зберіганні при 2-8 °C (°C). Стабільність набору і компонентів зазначені на етикетці.

**Зауваження 3:** Наведені вище реагенти призначені для набору на 192 лунки. Для інших конфігурацій набору зверніться до таблиці 14 у кінці інструкції.

**4.1 Необхідні матеріали, які не поставляються з набором**

1. Мікродозатор(и), зі здатністю подавати об'єми 0.025, 0.050 та 0.100 мл (мл) (25, 50 та 100 мкл (μl)), з точністю, що перевищує 1.5%.
2. Диспенсер(и) для повторних подач об'ємом 0.100 та 0.350 мл (мл) (100 та 350 мкл (μl)), з точністю, що перевищує 1.5%.
3. Мікропланшетний вошер або гнучка пляшка (опційно).
4. Мікропланшетний рідер з довжинами хвиль 450 нм (nm) і 620 нм (nm).
5. Фільтрувальний папір для висушування мікролунок.
6. Поліетиленова плівка або кришка для мікропланшета для кроків інкубації.
7. Вакуумний аспіратор для кроків промивання (опційно).
8. Таймер.
9. Матеріали контролю якості.

**5.0 ЗАУВАЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ**

**Набір призначений для діагностики in vitro  
Не для внутрішнього або зовнішнього використання  
на людях або тваринах**

Всі продукти, що містять людську сироватку, були визнані такими, що є не реактивними на поверхневий антиген гепатиту В, ВІЛ 1 і 2 і антитіла до ВГС з реагентами, ліцензованими FDA. Оскільки жоден відомий тест не може забезпечити повну впевненість у відсутності інфекційних агентів, усі продукти людської сироватки слід розглядати як потенційно небезпечні та здатні передавати захворювання. Принципи належної лабораторної процедури поводження з продуктами крові можна знайти в Центрі контролю захворювань/Національному інституті здоров'я, «Біологічна безпека в мікробіологічних і біомедичних лабораторіях», 2-е видання, 1988 р., публікація NHS № (CDC) 88-8395.

Безпечна утилізація компонентів набору повинна проводитись у відповідності з місцевими нормативно-законодавчими вимогами.

**6.0 ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ**

Зразками повинні бути кров, сироватка або гепаринізована плазма за типом, що отримані із звичайними запобіжними заходами для збору зразків венепункцією. Кров слід відбирати в пробірку для венепункції з червоною кришкою (з добавками гелю або без них) або у вакуумні пробірки (для плазми), що містять гепарин. Дайте крові згорнутися для зразків сироватки. Центрифугуйте зразок, щоб відокремити сироватку або плазму від клітин. У пацієнтів, які отримують терапію високими дозами біотину (тобто > 5 мг (mg)/добу), не слід брати зразки принаймні до 8 годин після останнього введення біотину, бажано на ніч для забезпечення зразка натщесерце.

Якщо зразок(и) неможливо проаналізувати протягом цього часу, зразок(и) можна зберігати при температурі -20 °C (°C) або нижче протягом 30 днів у менших аліквотах. Уникайте використання забруднених пристроїв. Уникайте повторного заморожування та розморожування. При аналізі в дублях для всіх трьох (3) параметрів потрібно 0.050 мл (мл) (50 мкл (μl)) зразка.

**7.0 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ**

Кожна лабораторія повинна проводити аналіз контролю на рівнях у низькому, нормальному та підвищеному діапазоні для моніторингу результатів аналізу. Ці контролю слід розглядати як невідомі та визначати їх значення в кожній проведеній процедурі тестування. Слід вести діаграми контролю якості, щоб стежити за показниками реагентів, що постачаються. Для встановлення тенденцій слід застосовувати відповідні статистичні методи. Значне відхилення від встановлених показників може свідчити про непомітну зміну експериментальних умов або погіршення стану реагентів набору. Свіжі реагенти слід використовувати для визначення причини змін.

**8.0 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ**

**1. Промивний буфер**

Розведіть вміст промивного розчину до 1000 мл (мл) дистильованою або деіонізованою водою у відповідній ємності для зберігання. Розведений промивний буфер можна зберігати при температурі 2-30 °C (°C) до 60 днів.

**2. Підготовка зразка пацієнта: Для зразків ХГЛ пацієнтів\* (перший триместр) розведення слід проводити наступним чином:**

Помістіть 0.5 мл (мл) (500 мкл (μl)) розчинника для зразків у тестову пробірку та додайте 0.025 мл (мл) (25 мкл (μl)) зразка пацієнта. Використовуйте вортекс для перемішування. (Розведення 1:21). Видаліть 0.025 мл (мл) (25 мкл (μl)) розведення (1:21) і розподіліть в іншу тестову пробірку, що містить 1.0 мл (мл) (1000 мкл (μl)) Розчинника для зразків (1/41) (Остаточне розведення 1:861). Проаналізуйте розведення 1:861 і помножте результати на коефіцієнт розведення 861.

\*Якщо виконується аналіз ХГЛ нормальної популяції, розведення не потрібно, крім випадків, коли ХГЛ пацієнта перевищує 250 мМО/мл (mIU/ml).

**3. Розчин Робочого Субстрату - стабільний протягом одного (1) року**  
Влийте вміст бурштинового флакона з розчином «А» у прозорий флакон розчину «В». Помістіть жовту кришку на прозорий флакон для зручності ідентифікації. Змішайте і позначте відповідно. Зберігайте при температурі 2-8 °C (°C) до 60 днів.

**Зауваження 1:** Не використовуйте робочий субстрат, якщо він придбав блакитне забарвлення.

**Зауваження 2:** Не використовуйте забруднені реагенти, або реагенти, де спостерігається ріст бактерії.

**9.0 ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ**

Перед початком аналізу всі реагенти, сироваткові референсні калібратори і контролю повинні досягти кімнатної температури (20-27 °C (°C)).

\*\*Процедура випробування повинна виконуватися кваліфікованою людиною або навченим професіоналом\*\*

1. Відформатуйте лунки мікропланшета для кожного сироваткового референсного калібратора, контролю та зразка пацієнта (як є і розведення) для постановки в дублях. Поверніть невикористані мікролунокві стрипи в алюмінієвий пакет, закрийте і зберігайте при 2-8 °C (°C).
2. Піпетуйте 0.025 мл (мл) (25 мкл (μl)) відповідного сироваткового референсного калібратора, контролю та зразків (розведених для ХГЛ) у відповідні лунки.

**(Для АФП та ХГЛ):**

3. а) Додайте 0.100 мл (мл) (100 мкл (μl)) Ферментного реагенту АФП або ферментного реагенту ХГЛ у кожному лунку. Дуже важливо вносити всі реагенти близько до дна лунки з покриттям.

**(Для ЕЗ):**

- в) Додайте 0.050 мл (мл) (50 мкл (μl)) Ферментного реагенту Вільного Естріолу у всі лунки. Плавна обертайте планшет протягом 20-30 секунд, щоб змішати вміст.
- с) Додайте 0.050 мл (мл) (50 мкл (μl)) Біотинового реагенту антитіла Вільного Естріолу у всі лунки.
4. Обертайте мікропланшет обережно протягом 20-30 секунд для перемішування.
5. Інкубуйте протягом 60 хвилин при кімнатній температурі.
6. Видаліть вміст лунок декантацією або аспірацією. Висушіть планшет на фільтрувальному папері, якщо використовувалася декантація.

- Додайте 0.350 мл (ml) (350 мкл (μl)) промивного буфера (див. розділ «Приготування реагентів»), декантуйте або аспіруйте. Повторіть процедуру ще два рази (загальна кількість циклів промивки - 3). Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника приладів. Якщо використовується гнучка пляшка, наповніть кожну лунку до верху (уникайте повітряних бульбашок). Видаліть вміст і повторіть ще 2 рази.
- Додайте 0.100 мл (ml) (100 мкл (μl)) розчину Робочого субстрату в кожну лунку (див. «Приготування реагентів»). Завжди додавайте реагенти в одній і тій же послідовності, щоб уникнути відмінностей у часі реакції в різних лунках.

#### НЕ СТРУШУЙТЕ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ СУБСТРАТУ

- Інкубуйте 15 хвилин при кімнатній температурі.
- Зупиніть розвиток забарвлення додаванням в кожну лунку 0.050 мл (ml) (50 мкл (μl)) стоп-розчину і перемішайте протягом 15-20 секунд. Завжди додавайте реагенти в одній і тій же послідовності, щоб уникнути відмінностей у часі реакції в різних лунках.
- Зчитайте поглинання в кожній лунці при 450 нм (nm) (використовуючи референсну довжину хвилі 620-630 нм (nm), щоб мінімізувати вплив дефектів лунки) у пристрої для зчитування мікропланшетів. Результати слід зчитувати протягом тридцяти (30) хвилин після додавання стоп-розчину.

#### 10.0 РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Крива доза-відповідь використовується для визначення концентрації аналізованих аналітів у невідомих зразках.

- Запишіть абсорбцію, отриману з роздруківки пристрою для зчитування мікропланшетів, як описано в Прикладі 1.
- Відкладіть на лінійному міліметровому папері абсорбцію для кожного дубля референсного сироваткового калібратора проти відповідної концентрації аналіту у відповідних одиницях (не усереднюйте дублікати референсних сироваток перед побудовою графіка).
- Накресліть найкращу криву через нанесені точки.
- Щоб визначити концентрацію аналіту для невідомого, знайдіть середню абсорбцію дублікатів для кожного невідомого на вертикальній осі графіка, знайдіть точку перетину на кривій і прочитайте концентрацію у відповідних одиницях (нг/мл (ng/ml) для АФП та мМО/мл (mIU/ml) для ХГЛ\*) з горизонтальної осі графіка (дублікати невідомого можуть бути усереднені, як зазначено).

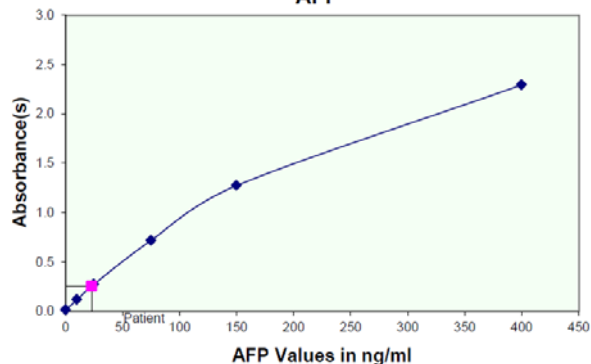
\*Малюнки та приклади наведені лише для прикладу. Не використовуйте їх для обчислення результатів.

\*Регулярний моніторинг рівнів ХГЛ вагітності зростає в геометричній прогресії і, таким чином, перевищує верхні межі *Кривої Доза-відповідь*. Для отримання достовірних результатів важливо розбавити ці зразки. (Будь ласка, див. Розділ «Підготовка реагенту», пункт «**Підготовка зразка пацієнта**»). Також див. нижню частину таблиці даних «**Приклад 2**» для розрахунків концентрації зразків пацієнта.

Приклад 1 (АФП)

ID зразка	№ лунки	Абсорбція (A)	Середнє абсорбції (B)	Значення (нг/мл (ng/ml))
Калібратор А	A1	0.015	0.015	0
	B1	0.015		
Калібратор В	C1	0.115	0.120	10
	D1	0.126		
Калібратор С	E1	0.256	0.277	25
	F1	0.298		
Калібратор D	G1	0.697	0.720	75
	H1	0.743		
Калібратор E	A2	1.221	1.274	150
	B2	1.326		
Калібратор F	C2	2.200	2.293	400
	D2	2.386		
Пацієнт	E2	0.253	0.256	22.9
	F2	0.258		

Малюнок 1  
AFP



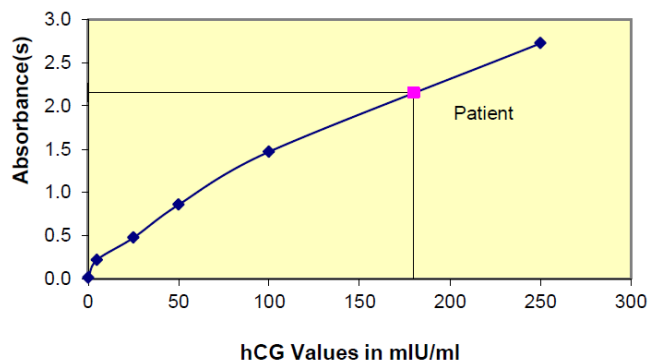
AFP - АФП  
Absorbance(s) - Абсорбція(і)  
AFP Values in ng/ml - Значення АФП в нг/мл  
Patient - Пацієнт

Приклад 2 (ХГЛ)

ID зразка	№ лунки	Абсорбція (A)	Середнє абсорбції (B)	Значення (мМО/мл (mIU/ml))
Калібратор А	A1	0.014	0.015	0
	B1	0.015		
Калібратор В	C1	0.222	0.220	10
	D1	0.217		
Калібратор С	E1	0.474	0.475	25
	F1	0.477		
Калібратор D	G1	0.855	0.857	50
	H1	0.860		
Калібратор E	A2	1.488	1.470	100
	B2	1.452		
Калібратор F	C2	2.707	2.724	250
	D2	2.741		
Розведений* зразок пацієнта (1:1071)	E2	0.483	0.476	25.7*
	F2	0.468		

\*Концентрація зразка пацієнта =  $25.7 \times 861 = 22.128$  мМО/мл (mIU/ml)

Малюнок 2  
hCG

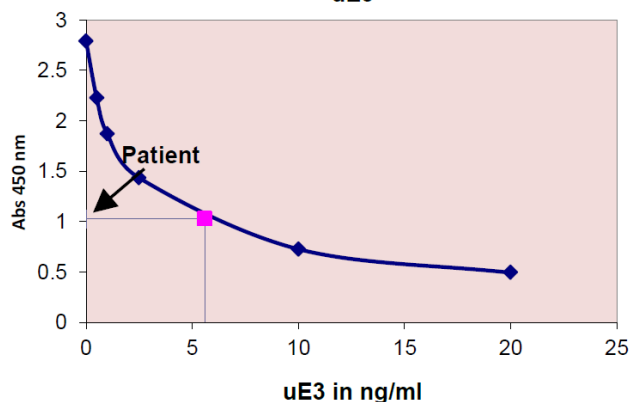


hCG - ХГЛ  
Absorbance(s) - Абсорбція(і)  
hCG Values in mIU/ml - Значення ХГЛ в мМО/мл  
Patient - Пацієнт

### Приклад 3 (ЕЗ)

ID зразка	№ лунки	Абсорбція (А)	Середнє абсорбції (В)	Значення (нг/мл (ng/ml))
Калібратор А	A1	2.765	2.790	0
	B1	2.815		
Калібратор В	C1	2.219	2.226	0.5
	D1	2.235		
Калібратор С	E1	1.872	1.870	1.0
	F1	1.868		
Калібратор D	G1	1.416	1.434	2.5
	H1	1.451		
Калібратор E	A2	0.711	0.727	10.0
	B2	0.743		
Калібратор F	C2	0.482	0.493	20.0
	D2	0.503		
Пацієнт	E2	1.037	1.028	5.2
	F2	1.019		

Малюнок 3  
uE3



uE3 - ЕЗ  
Abs 450 nm - Абсорбція при 450 нм  
uE3 in ng/ml - ЕЗ в нг/мл  
Patient - Пацієнт

#### 11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Результати аналізу можна вважати достовірними, якщо дотримуються наступні умови:

- Для АФП і ХГЛ абсорбція (ОЩ) калібратора «F» має бути  $\geq 1.3$ .
- Для ЕЗ абсорбція калібратора «A» має бути  $\geq 1.3$ .
- Чотири з шести півів контролю якості повинні знаходитись у встановлених межах.

#### 12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

MSDS і форма аналізу ризику для цього продукту доступні за запитом від компанії Monobind Inc.

##### 12.1. Якість роботи набору

- Для відтворюваності результатів важливо, щоб час реакції підтримувався постійним в кожній лунці.
- Піпетування зразків не повинно тривати більше десяти (10) хвилин, щоб уникнути дрейфу аналізу.
- Не використовувати високоліпемічні, гемолізовані або забруднені зразки.
- Якщо використовується більше, ніж один планшет, рекомендується повторювати криву доза-відповідь.
- Додавання субстратного розчину ініціює кінетичну реакцію, яка зупиняється при додаванні стоп-розчину. Отже, додавання субстрату і стоп-розчину повинно проводитися в однаковій послідовності для усунення відмінностей у часі реакції в різних лунках.
- Вимірювання оптичної щільності на рідері проходить вертикально. Не торкайтеся до дна мікролунок.
- Погана промивка лунок (неповне видалення розчину під час аспірації) може призводити до невідтворюваних і недостовірних результатів.
- Використовуйте компоненти тільки з одного лота. Не змішуйте реагенти з різних партій.

- Правильне і точне піпетування, а також дотримання точного часу і температурних вимог є необхідними умовами. Будь-які відхилення від встановлених Monobind інструкцій можуть давати невірні результати.
- Необхідно суворо дотримуватися всіх застосованих національних стандартів, нормативних актів і законів, включаючи, але не обмежуючись, належними лабораторними процедурами, щоб забезпечити відповідність і належне використання пристрою.
- Важливим є калібрування всього обладнання, тобто, дозаторів, зчитувачів, вошерів та/або автоматизованих інструментів, які використовуються з даним пристроєм. Також обов'язковим є належний догляд і обслуговування пристрою.
- Аналіз ризиків - відповідно до вимог Директиви 98/79/ЄС IV маркованих IVD - для цього та інших пристроїв, виготовлених Monobind, можна надіслати запит електронною поштою з [Monobind@monobind.com](mailto:Monobind@monobind.com).

#### 12.2 Інтерпретація результатів

- Вимірювання та інтерпретація результатів повинні бути виконані кваліфікованим або навченим професіоналом.
- Лабораторні результати не можуть бути єдиним критерієм для призначення лікування, особливо, якщо отримані результати не співпадають з іншими дослідженнями.
- Реагенти для процедур з використанням AccuBind® ІФА були розроблені для максимального усунення інтерференцій; однак, потенціальна взаємодія між рідкісними зразками сироватки та реагентами можуть привести до помилкових результатів тесту. Гетерофільні антитіла часто викликають ці взаємодії і, як відомо, є проблемою для всіх видів імунологічних досліджень (Boscatto LM, Stuart MC. «Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays» Clin. Chem. 1988:3427-33). Для діагностичних цілей, результати цього аналізу повинні бути використані в поєднанні з клінічним обстеженням пацієнта, історією і всіма іншими клінічними даними.
- Для отримання дійсних результатів адекватні контролю та інші параметри повинні знаходитись в межах встановлених норм.
- Monobind не несе відповідальності за результати тесту в разі, якщо складові набору були замінені іншими складовими з інших наборів, або якщо результати були інтерпретовані невірно.
- Якщо для обробки результатів тесту використовується комп'ютер, то розраховувані значення стандартів не повинні відхилятися більш, ніж на 10% від приписаних значень концентрації.
- АФП має низьку клінічну чутливість та специфічність як онкомаркер. **Клінічно лише підвищене значення АФП не має діагностичного значення як тест на рак** і повинно застосовуватися лише разом з іншими клінічними проявами (спостереженнями) та діагностичними параметрами. Відомо, що рівні АФП підвищені при ряді доброякісних захворювань та станів, включаючи вагітність та незлоякісні захворювання печінки, такі як гепатит та цироз.
- Перш ніж проводити будь-який диференціальний діагноз, слід врахувати повну історію хвороби та клінічну інформацію, доступну з усіх пов'язаних джерел. Жодного окремого тесту або методики недостатньо, щоб гарантувати обґрунтованість важливого клінічного рішення.

#### 13.0 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Значення АФП, ХГЛ та ЕЗ для нормальної, здорової популяції та вагітних жінок під час гестаційного циклу наведені в таблицях 1 та 2. Значення, наведені нижче, є обмеженими у внутрішніх дослідженнях відповідно до опублікованої літератури.

ТАБЛИЦЯ 1

(Нормальні показники ХГЛ під час вагітності)

ХГЛ	Нормальні Чоловік/Жінка	< 5.7 мМО/мл (mIU/ml)
<b>Під час нормальної вагітності (мМО/мл (mIU/ml))</b>		
	1-й тиждень	10 - 30
	2-й тиждень	30 - 100
	3-й тиждень	100 - 1 000
	4-й тиждень	1 000 - 10 000
	2-й & 3-й місяць	30 000 - 350 000
	2 триместр	10 000 - 30 000
	3 триместр	5 000 - 15 000

**ТАБЛИЦЯ 2**  
Середні значення під час гестації

Гестація (тиждень)	АФП (нг/мл (ng/ml))	ХГЛ (МО/мл (IU/ml))	ЕЗ (нг/мл (ng/ml))
15	40.14	40.88	0.68
16	42.91	33.87	0.87
17	52.34	28.71	1.17
18	61.50	26.74	1.51
19	75.57	18.76	1.91
20	83.31	19.24	2.02
21	90.46	23.46	2.78

Важливо мати на увазі, що встановлення діапазону значень, які можна очікувати за певним методом для сукупності «нормальних» осіб, залежить від безлічі факторів: специфічності методу, тестованої популяції і точності методу в руках аналітика. З цих причин кожна лабораторія повинна залежати від діапазону очікуваних значень, встановлених виробником, до тих пір, поки аналітики не зможуть визначити внутрішній діапазон, використовуючи метод із популяцією, корінною для району, в якому знаходиться лабораторія.

#### 14.0 ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ

##### 14.1.1 Точність (АФП)

Точність Тест-системи Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА в аналізі і між аналізами визначали шляхом аналізу трьох різних рівнів контрольної сироватки. Кількість, середнє значення, стандартне відхилення та коефіцієнт варіації для кожної з цих контрольних сироваток представлені в таблицях 3-8.

**ТАБЛИЦЯ 3**

Точність в аналізі для АФП (значення в нг/мл (ng/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Рівень 1	20	33.1	1.85	5.6
Рівень 2	20	140.5	7.45	5.3
Рівень 3	20	230.5	10.45	4.5

**ТАБЛИЦЯ 4**

Точність між аналізами для АФП\* (значення в нг/мл (ng/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Рівень 1	10	31.5	1.75	5.6
Рівень 2	10	135.8	8.54	6.3
Рівень 3	10	244.5	9.58	3.9

\*Вимірювання проводились в 10 експериментах в дублях.

##### 14.1.2. Точність (ХГЛ)

**ТАБЛИЦЯ 5**

Точність в аналізі для ХГЛ (значення в мМО/мл (mIU/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Рівень 1	20	2.8	0.15	5.4
Рівень 2	20	15.2	0.65	4.2
Рівень 3	20	178.0	10.50	5.9

**ТАБЛИЦЯ 6**

Точність між аналізами для ХГЛ\* (значення в мМО/мл (mIU/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Рівень 1	10	3.1	0.17	5.5
Рівень 2	10	15.4	0.81	5.3
Рівень 3	10	185.6	11.10	6.0

\*Вимірювання проводились в 10 експериментах в дублях.

##### 14.1.3 Точність (ЕЗ)

**ТАБЛИЦЯ 7**

Точність в аналізі для ЕЗ (значення в нг/мл (ng/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Низький	24	1.58	0.13	8.3
Нормальний	24	5.17	0.37	7.1
Високий	24	9.06	0.59	6.5

**ТАБЛИЦЯ 8**

Точність між аналізами для ЕЗ (значення в нг/мл (ng/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Низький	10	1.47	0.14	9.5
Нормальний	10	4.93	0.39	7.9
Високий	10	8.99	0.54	6.0

\*Вимірювання проводились в 10 експериментах в дублях.

#### 14.2 Чутливість

Чутливість Тест-системи Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА була визначена шляхом запуску 20 реплік калібратора «0». 2SD середнього значення розраховували з кривої реакції на дозу.

**ТАБЛИЦЯ 9**

Аналіт	Чутливість/Зразок	Чутливість/мл (ml)
АФП (нг/мл (ng/ml))	0.025 нг (ng)/Т	1.0 нг/мл (ng/ml)
ХГЛ	0.02 мМО (mIU)/Т	0.8 мМО/мл (mIU/ml)
ЕЗ	2.9 пг (pg)/Т	0.115 нг/мл (ng/ml)

#### 14.3 Достовірність

Тест-систему Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА для АФП порівняли з референсним методом. Були досліджені біологічні зразки з концентраціями від 2.5 до 601 нг/мл (ng/ml). Загальна кількість таких зразків становила 301. Рівняння найменшої квадратної регресії та коефіцієнт кореляції були розраховані для ІФА АФП порівняно з референсним методом. Отримані дані відображаються в таблиці 10.

**ТАБЛИЦЯ 10 (АФП)**

Метод	Середнє	Рівняння регресії	Коефіцієнт кореляції
Даний метод (Y)	6.60	Y = -0.7514 + 0.9639 (X)	0.978
Референсний (X)	6.43		

Тест-систему Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА для ХГЛ порівнювали з референсним методом. Були досліджені біологічні зразки з нормальної та вагітної популяції. Загальна кількість таких зразків становила 110. Рівняння найменш квадратної регресії та коефіцієнт кореляції були розраховані для ІФА ХГЛ порівняно з референсним методом. Отримані дані відображаються нижче.

**ТАБЛИЦЯ 11 (ХГЛ)**

Метод	Середнє	Рівняння регресії	Коефіцієнт кореляції
Даний метод (Y)	14.8	Y = 0.081 + 0.93 (X)	0.989
Референсний (X)	15.1		

Тест-систему Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА для ЕЗ порівнювали з референсним методом. Використовували біологічні зразки з популяцій з низьким, нормальним та високим рівнем ЕЗ (значення коливались в межах 0.15-29.1 нг/мл (ng/ml)). Загальна кількість таких зразків становила 58. Рівняння найменш квадратної регресії та коефіцієнт кореляції були розраховані для цього ІФА ЕЗ у порівнянні з референсним методом. Отримані дані відображаються в таблиці 12.

**ТАБЛИЦЯ 12 (ЕЗ)**

Метод	Середнє	Рівняння регресії	Коефіцієнт кореляції
Даний метод (Y)	3.84	Y = -0.1744 + 0.9794 (X)	0.952
Референсний (X)	3.74		

Тільки незначні розбіжності між Тест-системою Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА і референсними методами свідчать про близькість середніх значень. Рівняння регресії найменших квадратів і коефіцієнт кореляції показують відмінну узгодженість методів.

#### 14.4 Специфічність

Не було виявлено інтерференцій у роботі Тест-системи Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА після додавання величезної кількості наступних речовин до пулу сироватки людини. Якщо відбулася перехресна реакція, зазначається % перехресної реакції.

ТАБЛИЦЯ 14

Інтерферуюча речовина	АФП	ХГЛ	ЕЗ
АФП	100%	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)
ХГЛ	10 МО/мл (IU/ml)	100%	НТ*
ЕЗ	НТ*	НТ*	100%
Ацетилсаліцилова кислота**	100 мкг/мл (µg/ml)	100 мкг/мл (µg/ml)	100 мкг/мл (µg/ml)
Аскорбінова кислота	100 мкг/мл (µg/ml)	100 мкг/мл (µg/ml)	100 мкг/мл (µg/ml)
РЕА	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)	НТ*
ПСА	1.0 мкг/мл (µg/ml)	1.0 мкг/мл (µg/ml)	НТ*
ГЛГ	10 МО/мл (IU/ml)	10 МО/мл (IU/ml)	НТ*
ТТГ	100 мМО/мл (mIU/ml)	100 мМО/мл (mIU/ml)	НТ*
ПРЛ	100 мкг/мл (µg/ml)	100 мкг/мл (µg/ml)	НТ*
Естріол	НТ*	НТ*	100%
Андростенедіон	НТ*	НТ*	10 мкг/мл (µg/ml)
Кортизол	НТ*	НТ*	1.0 мг/мл (mg/ml)
Кортизон	НТ*	НТ*	10 мкг/мл (µg/ml)
Кортикостерон	НТ*	НТ*	10 мкг/мл (µg/ml)
ДГЕА-С	НТ*	НТ*	100 мкг/мл (µg/ml)
ДГТ	НТ*	НТ*	100 мкг/мл (µg/ml)
Естрадіол	НТ*	НТ*	10 нг/мл (ng/ml)
Інтерферуюча речовина	АФП	ХГЛ	ЕЗ
Е-3 Сульфат	НТ*	НТ*	0.62%
Преднізон	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)
Прогестерон	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)
Спіролактон	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)	10 мкг/мл (µg/ml)
Тестостерон	НТ*	НТ*	10 мкг/мл (µg/ml)

\*\*АСК = ацетилсаліцилова кислота. НТ\* = Не тестувалося

#### 14.5 Лінійність та хук-ефект

Величезна кількість споріднених аналітів розводили в пулі сироватки людини та тестували у лінійних розведеннях, щоб перевірити хук-ефект системи антитіл, що використовується у Тест-системі Панель потрійного скринінгу VAST® AccuBind® ІФА. Результати наведені в таблиці 13 нижче.

ТАБЛИЦЯ 13

Аналіт	Максимальна доза
АФП	100 000 нг/мл (ng/ml)
ХГЛ	100 000 мМО/мл (mIU/ml)
ЕЗ	1 000 нг/мл (ng/ml)

Реагент (заповнення)	Формат	96(A)	192(B)
	A.	Набір 1 мл (ml)	Набір 1 мл (ml)
	B.	1 (13 мл (ml))	1 (13 мл (ml))
	C.	1 (13 мл (ml))	1 (13 мл (ml))
	D.	1 (6 мл (ml))	1 (6 мл (ml))
	E.	1 (6 мл (ml))	1 (6 мл (ml))
	F.	1 планшет	2 планшети
	G.	1 (20 мл (ml))	1 (20 мл (ml))
	H.	1 (40 мл (ml))	1 (75 мл (ml))
	I.	1 (7 мл (ml))	2 (7 мл (ml))
	J.	1 (7 мл (ml))	2 (7 мл (ml))
K.	1 (8 мл (ml))	2 (8 мл (ml))	



MONOBIND INC.  
100 North Pointe Dr.  
Lake Forest, CA 92630 - USA  
Phone: 949.951.2665  
Fax: 949.951.3539  
[www.monobind.com](http://www.monobind.com)

#### ВИРОБНИК

МОНОБАЙНД ІНК  
100 Норд Поінт Драйв  
Лейк Форест, Каліфорнія 92630 - США  
Тел.: 949.951.2665  
Факс: 949.951.3539  
[www.monobind.com](http://www.monobind.com)



#### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

