

LIAISON® XL HCG (REF 312321)

1. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Анализ *in vitro* для количественного определения содержания человеческого хорионического гонадотропина (hCG и βhCG) в человеческой сыворотке. Анализ должен проводиться только на анализаторах линейки LIAISON®.

2. КРАТКАЯ СПРАВКА И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

Человеческий хорионический гонадотропин (hCG) – это димерный гликопротеин с молекулярной массой 37 000 Дальтонов, состоящий из α-субъединицы и β-субъединицы. α-субъединица hCG практически идентична аналогичной субъединице гипофизарных гормонов LH (лютеинизирующий гормон), FSH (фолликулостимулирующий гормон) и TSH (тиреостимулирующий гормон) (2, 6).

hCG вырабатывается плазмодиотрофобластом плаценты, и его можно выявить в материнской сыворотке сразу после имплантации. hCG отвечает за поддержание функции овариального жёлтого тела. При нормальном течении беременности концентрации hCG быстро повышаются, увеличиваясь вдвое приблизительно за два дня (3). Патологически сниженные значения указывают на осложнённую беременность (например, внематочную беременность). Резкое падение уровней hCG перед 8-10-ой неделей беременности следует считать серьёзным индикатором угрожающего аборта (4).

Если беременность можно исключить, уровни hCG выше нормы, вероятно, указывают на присутствие злокачественных новообразований, в частности герминогенных опухолей (например, опухоль яичка, хориокарцинома или карцинома яичника) (1, 7). Для использования в качестве опухолевого маркера тест-система должна распознавать как hCG, так и βhCG, поскольку опухоли яичка и хориокарциномы выделяют в основном скорее свободные β-цепочки, чем интактные молекулы hCG (5).

3. ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Методом количественного определения hCG является иммунохемилюминесцентный сэндвич-анализ.

Специфическое мышинное моноклональное антитело наносится на магнитные частицы (твёрдая фаза); другое моноклональное антитело связывается с производным изолюминола (конъюгат изолюминол-антитело). Все этапы анализа и инкубации проводятся на анализаторах линейки LIAISON®.

Во время первой инкубации hCG, которые присутствуют в калибраторе, образцах или контролях, связываются с моноклональным антителом твёрдой фазы, и впоследствии после промывки и второй инкубации конъюгат антитела вступает в реакцию с hCG, уже связанным с твёрдой фазой.

После инкубации несвязанный материал удаляется с помощью цикла промывки.

Затем добавляются стартовые реагенты, и таким образом инициируется мгновенная хемолюминесцентная реакция. Световой сигнал, а таким образом и количество конъюгата изолюминол-антитело, измеряется фотоумножителем в относительных световых единицах (RLU) и указывает на концентрацию hCG в калибраторе, образцах или контролях.

4. ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Порядок реагентов отражает компоновку контейнеров в наборе реагентов.

Набор реагентов для 100 анализов			
2,5	мл	SORB	Твёрдая фаза: содержит магнитные частицы, покрытые моноклональным антителом анти- βhCG (мышинным), BSA, 0,09%-ый азид натрия
1,0	мл	CAL 1	Калибратор 1, низкий: содержит человеческий хорионический гонадотропин (hCG), BSA, 0,09%-ый азид натрия
1,0	мл	CAL 2	Калибратор 2, высокий: содержит человеческий хорионический гонадотропин (hCG), BSA, 0,09%-ый азид натрия
29,0	мл	CONJ	Конъюгат: содержит моноклональное антитело анти- βhCG (мышинное), маркированное изолюминолом, BSA, 0,09%-ый азид натрия
13,0	мл	BUF 1	Буфер для анализа: содержит BSA, 0,09%-ый азид натрия
25,0	мл	DIL SPE	Разбавитель образца: содержит BSA, 0,09%-ый азид натрия

Все реагенты поставляются готовыми к использованию.

Необходимые, но не предоставляемые материалы (связанные с системой)

Анализаторы LIAISON® XL	Анализаторы LIAISON®
Промывочная/системная жидкость LIAISON® (REF 9100)	Промывочная/системная жидкость LIAISON® (REF 9100)
Мешки для отходов LIAISON® XL (REF X0025)	Мешки для отходов LIAISON® (REF 450003)
Кюветы LIAISON® XL (REF X0016)	Модуль LIAISON® (REF 319130)
Стартовый набор LIAISON® XL (REF 319200)	Стартовый набор LIAISON® (REF 319102) или
Одноразовые наконечники LIAISON® XL (REF X0015)	Стартовый набор LIAISON® XL (REF 319200)
	Очистной комплект LIAISON® (REF 310990)
	Light Check 12 (REF 319150)

Дополнительно требуемые материалы

LIAISON® Мультиконтроль Опухолевых маркеров (REF 319109)

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для использования в диагностике *in vitro*.

Все материалы человеческого происхождения, используемые для производства компонентов данного набора, были проверены на наличие HBsAg, анти-НСV, анти-ВИЧ-1, анти-ВИЧ-2, и оказались неактивными. Однако, поскольку ни один метод анализа не дает полной уверенности в отсутствии патогенов, все образцы человеческого происхождения следует считать потенциально инфекционными и обращаться с ними следует с осторожностью.

6. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику во время проведения анализа.

Не пипетируйте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.

Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия, содержащего 0,5% активного хлора, а использованные средства следует утилизировать как потенциально инфекционные.

Все используемые для анализа образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты; осторожно обращайтесь с отходами и утилизируйте их в соответствии с лабораторными нормами и положениями действующего закона в каждом государстве. Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местным законодательством и нормами. Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Не используйте наборы или компоненты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

Реагенты, содержащие азид натрия (< 0,1%) [ЕС № 247-852-1]:

ДИРЕКТИВА	ЕС № 1272/2008
УКАЗАНИЕ НА ОПАСНОСТЬ/ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ О РИСКАХ	ЕУН 210 – Паспорт безопасности продукта доступен по запросу

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

7.1. Набор реагента

Пожалуйста, примите к сведению следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Перед тем, как поместить набор на инструмент, нужно полностью ресуспендировать магнитные частицы. Для обеспечения полного ресуспендирования следуйте этапам, указанным ниже:

Прежде чем снять пломбу, поверачивайте маленькое колесико в отсеке магнитных частиц до тех пор, пока суспензия не станет коричневого цвета. Осторожное и мягкое поперечное перемешивание может помочь в ресуспендировании магнитных частиц (избегайте образования пены). Визуально проверяйте дно флакона с магнитными частицами, чтобы убедиться, что ресуспендировались все осевшие магнитные частицы. При необходимости повторите процедуру, пока магнитные частицы полностью не ресуспендируются. После снятия пломбы осторожно протрите поверхность каждой перегородки, чтобы удалить остаточную жидкость, если необходимо.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальную работу набора, следует избегать вспенивания реагентов. Придерживайтесь рекомендаций, указанных ниже, чтобы избежать вспенивания:

Перед использованием набора визуально проверяйте реагенты, особенно калибратор (позиция 2 и 3 после флакона с магнитными частицами), чтобы убедиться, что нет пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц есть пена, поместите набор на инструмент и подождите, пока пена рассеется. Набор готов к использованию, как только пена рассеется, а набор находится в инструменте и перемешивается.

Загрузка набора в зону реагентов

Анализаторы LIAISON®

Поместите набор в зону реагентов анализатора так, чтобы этикетка штрих-кода смотрела налево, и оставьте его там перед использованием на 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы. Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки образцов и запуска цикла.

Анализаторы LIAISON® XL

Анализатор LIAISON® XL оборудован встроенным твердотельным магнитным элементом, который помогает рассеивать микрочастицы до помещения набора реагентов в зону реагентов анализатора. Более подробную информацию см. в инструкции по эксплуатации анализатора.

Вставьте набор реагентов в специальный слот.

Оставьте набор реагентов в твердотельном магнитном элементе минимум на 30 секунд (вплоть до нескольких минут). При необходимости повторите.

Поместите набор в зону реагентов анализатора так, чтобы этикетка смотрела налево, и оставьте его там перед использованием на 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки образцов и запуска цикла.

7.2. Контроли

Инструкции по надлежащей подготовке и правильному обращению смотрите в разделе инструкции по эксплуатации Опухолевых маркеров LIAISON® Мультиконтроль [REF] 319109).

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

НАБОР РЕАГЕНТОВ

Закрытым: Стабилен при температуре 2-8°C до истечения срока годности.

Открытым в рабочем положении или при температуре 2-8°C: Стабилен 4 недели (см. § 12).

Не замораживать.

Хранить в вертикальном положении, чтобы впоследствии ускорить процесс надлежащего ресуспендирования магнитных частиц.

Используйте стеллаж для хранения, предоставляемый с анализатором линейки LIAISON®, для хранения набора реагентов в вертикальном положении.

Беречь от воздействия прямого света.

9. СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Возьмите образцы, соблюдая стандартные процедуры.

Материал образца: сыворотка.

Если анализ проводится не в день сбора образцов, сыворотку следует отделить от осадка и хранить в отдельной пробирке.

Хранить при температуре 2-8°C: 24 ч.

Для более длительного хранения: заморозить до низкой температуры -20°C.

Избегать многократных циклов замораживания и размораживания.

Перед использованием хранящиеся образцы следует тщательно перемешать (Вортекс-миксером).

Макроскопически гемолизированные или липемические образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы или имеющие явные признаки микробного загрязнения, анализировать нельзя.

Не используйте свернувшиеся образцы.

Минимальный объем, требуемый для однократного измерения – 180 мкл образца (30 мкл образца + 150 мкл мёртвого объёма).

10. КАЛИБРОВКА

Анализ калибраторов, специфических для данного анализа, позволяет определить значения относительных световых единиц (RLU) для регулировки заданной теоретической кривой. Может быть выполнено до 6 калибровок (всего).

Перекалибровка в трех параллелях обязательна всякий раз, когда наступает как минимум одно из следующих условий:

- Используется новая партия набора реагентов или стартового набора.
- Со времени предыдущей калибровки прошло более 14 дней.
- Анализатор прошел техобслуживание.
- Контрольные значения находятся вне ожидаемых пределов.

Анализаторы LIAISON®: Значения калибратора хранятся в штрих-кодах на этикетке набора.

Анализаторы LIAISON® XL: Значения калибратора хранятся в ретрансляторе радиочастотной идентификации (ярлык РЧИД).

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование инструкции по эксплуатации анализатора гарантирует надлежащее выполнение анализа.

Анализаторы LIAISON®. Каждый диагностический параметр идентифицируется посредством штрих-кодов на этикетке набора. Если штрих-код не считывается анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте набор реагентов; свяжитесь с местным отделом технической поддержки компании DiaSorin для получения инструкций.

Анализаторы LIAISON® XL. Каждый диагностический параметр идентифицируется посредством информации, зашифрованной в ретрансляторе радиочастотной идентификации (ярлык РЧИД) набора реагентов. В случае если ярлык РЧИД не считывается анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте набор реагентов; свяжитесь с местным отделом технической поддержки компании DiaSorin для получения инструкций.

Операции для анализатора LIAISON® следующие:

1. Распределите образцы, калибраторы или контроли в реакционный модуль
2. Распределите покрытые магнитные частицы (Твердая фаза) и Буфер 1
3. Инкубируйте
4. Промойте с помощью промывочной /системной жидкости
5. Распределите конъюгат в реакционный модуль
6. Инкубируйте
7. Промойте с помощью промывочной /системной жидкости
8. Добавьте стартовый набор и измерьте излучаемый свет

Операции для анализатора LIAISON® XL следующие:

1. Распределите покрытые магнитные частицы (Твердая фаза) и Буфер 1 в реакционные кюветы
2. Распределите образцы, калибраторы или контроли
3. Инкубируйте
4. Промойте с помощью промывочной /системной жидкости
5. Распределите конъюгат в реакционные кюветы
6. Инкубируйте
7. Промойте с помощью промывочной /системной жидкости
8. Добавьте стартовый набор и измерьте излучаемый свет

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для мониторинга выполнения анализа контроля LIAISON® следует запустить однократно. Контроль качества можно проводить путем запуска контролей сыворотки LIAISON® или специализированных коммерческих контролей:

- не менее одного раза в день использования,
- каждый раз, когда используется новый набор реагентов,
- каждый раз после калибровки набора,
- каждый раз, когда используется новая партия стартовых реагентов,
- для оценки соответствия рабочих характеристик открытого набора по истечении 4 недель,
- либо в соответствии с директивами или требованиями местных норм или аккредитованных организаций.

Контрольные значения должны находиться в ожидаемых пределах: каждый раз, когда показатели одного из контролей выходят за ожидаемые пределы, следует повторить калибровку и заново проанализировать контроли. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, неоднократно выходят за предварительно определенные пределы, следует повторить анализ, используя запечатанный флакон контроля. Не записывайте результаты анализов пациентов, если результаты контролей не будут в ожидаемых пределах.

Перед использованием других контролей сначала следует оценить их характеристики на предмет совместимости с данным анализом. В таком случае следует установить подходящие диапазоны значений для используемых материалов для контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию hCG в неизвестных образцах в мМЕ/мл. Более подробную информацию см. в инструкции по эксплуатации анализатора.

Калибраторы и контроли могут давать разные RLU или результаты дозировки на LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты пациента эквивалентны.

13.1. Стандартизация

Анализ откалиброван с использованием 3-го Международного стандарта IS 75/537.

13.2. Диапазон анализа

LIAISON® XL HCG измеряет концентрации до 10 000 мМЕ/мл.

13.3. Диапазон референсных значений (установлен по сыворотке) (мМЕ/мл)

Вышеуказанные значения оценивались на 238 практически здоровых мужчинах и женщинах.

	95ый процентиль	Средняя величина	Максимум
Мужчины	0.303	0.300	0.918
Женщины	2.642	0.300	6.452

Показатели LIAISON® XL HCG при беременности (нормальное течение беременности)

Беременные	n*	Средняя величина (мМЕ/мл)	2.5-ой - 97.5-ый процентиль (мМЕ/мл)
Срок беременности 1 - 10 недель	63	45,160	< 0.300 – 222,895
Срок беременности 11 - 15 недель	81	62,000	16,564 – 200,111
Срок беременности 16 - 22 недели	50	22,955	2,388 – 56,413
Срок беременности 23 - 40 недель	93	17,070	1,970 – 66,243

* Количество измерений

Данная информация указана только как методические рекомендации. Важно, чтобы каждая лаборатория установила свой собственный диапазон референсных значений, характерных для ее типичной популяции.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Реагенты следует использовать только на анализаторах линейки LIAISON®.

Одинарные компоненты набора реагентов нельзя удалять из набора.

Набор нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке.

Для получения надежных результатов требуется умелая техника и строгое соблюдение инструкций.

Бактериальное заражение или термоинактивация образцов может повлиять на результаты.

Повышенные уровни содержания hCG сами по себе нельзя принимать за признак наличия герминогенной опухоли, их можно интерпретировать лишь вместе с клинической картиной и другими диагностическими процедурами. Любое терапевтическое решение также должно приниматься индивидуально в каждом конкретном случае.

Иногда повышенные уровни содержания hCG также могут быть выявлены у пациентов с бронхиальной карциномой, опухолями желудочно-кишечного тракта или гепатомой.

Не смотря на то, что добавляются НАМА-нейтрализующие агенты, слишком высокие концентрации НАМА (человеческие антимышьиные антитела) могут иногда влиять на результаты.

Образцы, содержащие уровни hCG, выходящие за пределы диапазона измерений можно предварительно разбавить разбавителем.

Неповторяющиеся результаты выше диапазона референсных значений: Некоторые образцы, которые оцениваются выше диапазона референсных значений в анализе LIAISON® XL HCG, могут показывать другие характеристики при повторном анализе. Наиболее частыми источниками этого явления являются:

- Твёрдые частицы в образце пациента, особенно сгустки фибрина и ячештый материал.
- Контаминация нереактивных образцов по причине случайного переноса ничтожного количества образцов с высоким титром hCG.

Нельзя заменять наборы реагентов одного типа анализатора набором реагентов другого типа анализатора (LIAISON® и LIAISON® XL). Если набор вставлялся в определенный тип анализатора, его до конца следует использовать именно с этим типом анализатора. В связи с вопросами прослеживаемости, вытекающими из заявления выше, последующие наблюдения пациентов нельзя проводить с разными типами анализаторов. Их следует завершать, используя один конкретный тип анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1. Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность можно определить, как способность анализа точно выявить конкретный аналит в присутствии потенциально интерферирующих факторов в матрице образцов (например, гемолиз, липемия, билирубинемия).

15.2. Интерференция

Контролируемые исследования потенциально интерферирующих веществ или состояний показали, что на выполнение анализа не влияют концентрации билирубина < 0.2 мг/мл, гемоглобина < 1000 мг/дл или триглицеридов < 30 мг/мл.

15.3. Перекрестное взаимодействие

В соответствующих диапазонах концентрации данный анализ не показал каких-либо подающихся обнаружению перекрестных реакций с LH, FSH или TSH, пролактином и HGH (гормоном роста человека), но показал 100%-ную перекрестную реакцию с βhCG.

15.4. Точность анализаторов LIAISON®

Различные образцы, содержащие разные концентрации hCG, были проанализированы для оценки воспроизводимости и сходимости результатов анализа (т.е., вариабельность в пределах одного или между несколькими анализами).

Вариабельность в пределах одного анализа			Вариабельность между несколькими анализами		
Среднее значение (мМЕ/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*	Среднее значение (мМЕ/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*
20.6	4.9	20	24.7	5.3	20
41.5	5.1	20	51.9	3.3	20
459.3	3.5	20	480.4	4.9	20
4993	4.7	20	6825	5.5	20

* Количество измерений

15.5. Точность анализаторов LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие разные концентрации hCG, были проанализированы для оценки воспроизводимости и сходимости результатов анализа (т.е., вариабельность в пределах одного или между несколькими анализами).

Вариабельность в пределах одного анализа			Вариабельность между несколькими анализами		
Среднее значение (мМЕ/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*	Среднее значение (мМЕ/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*
26.3	3.3	160	26.3	7.4	160
62.5	2.4	160	62.5	6.1	160
440.3	1.6	160	440.3	4.1	160
4126	1.5	160	4126	3.9	160

* Количество измерений

15.6. Отсутствие погрешностей

Отсутствие погрешностей в анализе проверено методом серийных разведений и испытаниями на восстановление.

15.7. Метод серийных разведений

Образцы, содержащие высокие концентрации hCG, были проанализированы в таком качестве и после серийных разведений разбавителем для образца. Измеренные концентрации HCG по сравнению с ожидаемыми значениями были проанализированы с помощью линейной регрессии.

Данная таблица дает пример линейности разведения сыворотки пациента, разведенной другой сывороткой. Исходная концентрация: 10,379 мМЕ/мл.

Разведение	Измеренное значение (мМЕ/мл)	Ожидаемое значение (мМЕ/мл)	Восстановление (%)
1 : 1.43	6927	7266	95.3
1 : 2.00	5032	5190	96.9
1 : 3.33	3286	3115	105.5
1 : 10	1064	1039	102.4

15.8. Испытание на восстановление

Образцы с добавлением hCG были проанализированы для оценки восстановления анализа LIAISON® XL HCG. Восстановление осуществлялось путем разведения образца (анализ на смешивание). Для метки использовалась сыворотка с высокой концентрацией, разбавленная сывороткой с низким титром.

Разведение	Измеренное значение (мМЕ/мл)	Ожидаемое значение (мМЕ/мл)	Восстановление (%)
Сыворотка с высокой концентрацией	7163		
2 + 1	4707	4800	98
1 + 1	3544	3583	99
1 + 2	2358	2366	100
Сыворотка с низкой концентрацией	3.816		

15.9. Влияние насыщения высокой дозировкой

Когда анализируются образцы, содержащие очень высокие концентрации антител, влияние насыщения может симулировать концентрации, которые ниже реальных. Анализ влияния насыщения был оценен путем анализа 5 высококонцентрированных образцов с добавлением hCG. По результатам у всех образцов рассчитанные значения концентрации были выше диапазона анализа, что говорит об отсутствии ошибочной классификации.

Влияние насыщения высокой дозировкой не наблюдалось для концентраций hCG вплоть до 14 500 000 мМЕ/мл.

15.10. Аналитическая и функциональная чувствительность

Аналитическая чувствительность:

Аналитическая чувствительность определяется как минимальная поддающаяся обнаружению доза, отличная от нуля на 2 стандартных отклонения.

Функциональная чувствительность:

Функциональная чувствительность (определяется как самая низкая концентрация аналита, которую можно определить с коэффициентом отклонения между разными анализами < 20%):

	Предел обнаружения (Аналитическая чувствительность)	Предел количественного определения (Функциональная чувствительность)
Анализатор линейки LIAISON®	0.3 мМЕ/мл	1.5 мМЕ/мл