



LIAISON® β_2 -Microglobulin (314501) β_2 -микроглобулин

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Сыворотка и плазма

Количественное определение β_2 -микроглобулина в человеческой сыворотке, плазме (ЭДТА, гепарин, цитрат) методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON®.

1.2 Моча

Возможно количественное определение β_2 -микроглобулина в моче. Для заказа данной методики в диалоговом окне заказа проб выбрать «**B2MU**» (не «**B2MS**»). Запрещается проводить исследование сыворотки или плазмы запуском «**B2MU**». Выбор «**B2MU**» автоматически увеличивает объем дозируемой пробы до 100 μ л. Объемы дозирования калибраторов и другие характеристики остаются неизменными, результат выдается в мг/л. калибровка методики проводится анализатором по схеме «**B2MS**». Коррекция результатов исследования мочевых проб выполняется автоматически. Пробы мочи сразу после сбора должны быть доведены до 6-8pH с помощью 0,5 н NaOH и исследованы в течение 24 часов. Для более длительного хранения пробы необходимо заморозить при температуре -20 °С.

В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию. С помощью набора реактивов LIAISON® β_2 -Microglobulin было исследовано 127 проб здоровых субъектов (женщин и мужчин). В качестве верхней границы нормы было использовано значение 97,5%-й перцентили, равное 0,3 мг/л.

2. ВВЕДЕНИЕ

β_2 -Микроглобулин – низкомолекулярный белок (10,8 кД), нековалентно связанный с антигеном главного комплекса гистосовместимости – HLA, он обнаруживается на клеточной мембране практически всех клеток, содержащих ядро. Поверхность лимфоцитов и моноцитов особенно богата β_2 -микроглобулином. Белок удаляется из организма через почки путем клубочковой фильтрации, после чего более 99,9% всасывается обратно и деградирует в проксимальных канальцах. Сывороточная концентрация β_2 -микроглобулина зависит от скорости клубочковой фильтрации и скорости синтеза. Определение β_2 -микроглобулина используется для мониторинга лимфопролиферативных заболеваний (множественной миеломы, хронической лимфоцитарной лимфомы, неходжкинской лимфомы, болезни Ходжкина) и для оценки функционирования почек. Кроме того, концентрация β_2 -микроглобулина может повышаться вследствие инфекционных заболеваний и воспалительных процессов.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения β_2 -микроглобулина представляет собой 1-ступенчатый конкурентный хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Кроличьи поликлональные антитела к β_2 -микроглобулину связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза), молекулы β_2 -микроглобулина мечены производным изолюминола (конъюгат антигена с красителем). Во время инкубации молекулы β_2 -микроглобулина, присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, конкурируют с молекулами конъюгата за связывание с антителами твердой фазы. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает количество конъюгата β_2 -микроглобулина с изолюминолом, которое, в свою очередь, обратно пропорционально концентрации β_2 -микроглобулина в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые кроличьими поликлональными антителами к β_2 -микроглобулину; азид натрия.
Калибратор 1 (1 мл)	β_2 -микроглобулин; фосфатный буфер; БСА; азид натрия. Концентрация β_2 -микроглобулина в калибраторе (мг/л) определена с использованием 1-го стандартного препарата ВОЗ 1985.
Калибратор 2 (1 мл)	β_2 -микроглобулин; фосфатный буфер; БСА; азид натрия. Концентрация β_2 -микроглобулина в калибраторе (мг/л) определена с использованием 1-го стандартного препарата ВОЗ 1985.
Конъюгат (22 мл)	β_2 -микроглобулин, меченный производным изолюминола (аминобутилэтилизоломинолом); фосфатный буфер; БСА; азид натрия.
Раствор для разведения образцов (25 мл)	Фосфатный буфер; БСА; азид натрия.
Количество определений	100

Все реагенты готовы к использованию. Порядок расположения реактивов в таблице отражает их расположение в картридже реактивов.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализатор LIAISON [®] XL	Анализатор LIAISON [®]
Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL(каталожный номер 319200).	Реакционные модули (каталожный номер 319130). Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150).
Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и моющей станции (каталожный номер 310995).	Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

Мульти-контроли для онкомаркеров (каталожный номер 319109)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Только для *In vitro* диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционным.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы.

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 с 0,5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране. Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

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

DIRECTIVE	EC No. 1272/2008
HAZARD / RISK STATEMENTS	EUH 210 - Safety data sheet available on request

7. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

7.1 Интегральный картридж реактивов.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов.

Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к

использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

Установка интеграла в область загрузки реактивов

Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.
 - а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.
 - б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.
- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

7.2 Контроли

Для правильной хранения, подготовки и постановки и набора контрольных материалов LIAISON® Multi-Control Tumour Markers Set следовать соответствующей инструкции.

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение **не менее 4 недель** при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора (параграф 12). После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах.

9. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Сыворотка, плазма. ЭДТА, цитрат и гепарин могут быть использованы в качестве антикоагулянтов. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузырьки с ее поверхности.

Стабильность: 7 дней при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. Избегайте повторного замораживания пробы.

Минимально необходимый объем сыворотки/плазмы - 160 µл (10 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

Моча.

Минимально необходимый объем мочи - 250 µл (100 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

10. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла. Калибраторов в наборе достаточно для проведения 12 калибровок.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 2 недель с момента последней калибровки.
- Используется новый набор реактивов.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON®: значения концентраций калибратора содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON® XL: значения концентраций калибратора содержатся в радиочастотной метке.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

В случае сыворотки/плазмы в окне заказа исследований выберите тест «B2MS» (S-serum, сыворотка), в случае мочи – «B2MU» (U-urine, моча). Запрещается выполнять исследование пробы с помощью теста, не соответствующего типу пробы!

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON®. Для идентификации каждой методике используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление магнитных частиц и конъюгата.
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание магнитных частиц и дилуента в реакционные кюветы.
2. Добавление калибраторов, контролей или проб в кюветы.
3. Инкубация.
4. Добавление конъюгата.
5. Инкубация.
6. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
7. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль производства компании DiaSorin или другой коммерческий контроль:

- а. по меньшей мере 1 раз в день перед постановкой проб пациентов
- б. каждый раз при использовании нового реагентного картриджа
- в. Каждый раз после калибровки набора
- г. каждый раз при использовании нового лота Starter Kit
- д. для того, чтобы оценить адекватность работы открытого интеграла через 4 недели в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контроли LIAISON® следует ставить в 1 повторности для контроля эффективности анализа. Контрольные значения должны лежать в пределах ожидаемого диапазона: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, следует провести калибровку и повторить тестирование контроля. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, тестирование следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты не должны сообщаться пациенту. Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Затем следует установить соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию β_2 -микроглобулина в мг/л во всех типах проб. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя. Результаты измерений калибраторов и контролей анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL в относительных световых единицах (RLU) или концентрационных единицах могут различаться, но результаты анализов проб пациентов будут одинаковыми.

13.1 Стандартизация

Исследование было откалибровано в соответствии со стандартам ВОЗ (1ый стандарт 1985).

13.2 Диапазон исследования

До 40 мг/л β_2 -микроглобулина в сыворотке/плазме.

13.3 Референсные границы

С помощью набора реактивов LIAISON® β_2 -Microglobulin было исследовано 379 проб здоровых доноров крови (женщин и мужчин). В качестве граничных значений нормы были взяты значения 2,5%-й и 97,5-й перцентилей: 0,9-2 мг/л.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ

Реагенты следует использовать только в семействе анализаторов LIAISON®

Отдельные компоненты интеграла реагента не должны быть удалены из интеграла.

Этот комплект нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке упаковки. Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов. Бактериальная контаминация, повторное замораживание или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования. Наличие инфекции и

воспалительных процессов в организме может привести к увеличению концентрации β_2 - микроглобулина.

Интерпретация результатов определения β_2 -микроглобулина может проводиться только вместе с данными истории болезни и других диагностических исследований. Измерение только концентрации β_2 -микроглобулина не позволяет сделать выводы о наличии или отсутствии опухолей или нарушений функций почек.

Запрещается обмениваться интегралами между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Запрещается оценивать динамику концентрации по результатам, полученным на разных типах анализаторов. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

15.1 Аналитическая специфичность.

Аналитическую специфичность можно определить, как способность теста безошибочно выявлять специфический аналит в присутствии потенциально мешающих факторов в матриксе пробы (например, антикоагулянтов, гемолиза, результата обработки пробы).

15.2 Интерференция: контролируемые исследования потенциально мешающих факторов или условий продемонстрировали, что характеристики теста не менялись в присутствии гемолиза (вплоть до концентрации гемоглобина 500 мг/дл), липемии (вплоть до концентрации триглицеридов 12,5 мг/мл), билирубинемии (вплоть до концентрации билирубина 0,125 мг/мл).

15.3 Перекрестная реактивность:

Интерференция отсутствовала при IgG 30000 мг/л, IgA 4000 мг/л, IgM 2500 мг/л, IgE 0,5 мг/л.

15.4 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON®

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического аналита, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (мг/л)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (мг/л)	КВ (%)	Кол-во
1,32	3,4	20	1,42	8,0	20
3,23	3,9	20	3,28	6,2	20
13,56	2,3	20	14,74	4,9	20
25,80	2,9	20	27,07	5,1	20

15.5 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического аналита, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (мг/л)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (мг/л)	КВ (%)	Кол-во
1,37	3,9	20	1,30	5,9	20
3,29	2,8	20	3,36	5,2	20
13,47	2,4	20	13,81	5,4	20
25,34	3,1	20	27,33	4,2	20

15.6 Правильность исследования

Правильность исследования была определена с помощью теста разведения.

15.7 Тест разведения.

Пробы (сыворотка) с высокой концентрацией β_2 -микроглобулина были исследованы перед и после разведения. Результаты были проанализированы с помощью метода линейной регрессии.

Разведение	Полученные значения (мг/л)	Ожидаемые значения (мг/л)	Восстановление (%)
1:1,25	24,68	25,62	96
1:1,67	19,27	19,21	100
1:2,5	12,78	12,81	100
1:5	6,22	6,40	97
1:10	3,45	3,20	108

15.8 Тест восстановления.

Пробы с внесением β_2 -микроглобулина были исследованы с помощью LIAISON® β_2 -Microglobulin.

В таблице представлены результаты восстановления проб сыворотки (3,32 мг/л) с разным внесением β_2 -микроглобулина.

Полученные значения (мг/л)	Ожидаемые значения (мг/л)	Восстановление (%)
5,49	5,76	95
7,96	8,21	97
13,05	13,09	100
17,12	17,98	95
21,76	22,87	95
27,90	27,75	101

15.9 СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аналитическая чувствительность:

определенная как минимальная концентрация от 0 с 2 стандартными отклонениями составила менее $\leq 0,08$ мг/л.

Функциональная чувствительность:

определяется как концентрация внутри серии, коэффициент вариации которой $< 20\%$. Функциональная чувствительность составила $\leq 0,4$ мг/л.