



АСОЦІЙОВАНІЙ З ВАГІТНІСТЮ БІЛОК А ПЛАЗМИ (PAPP-A), НАБІР ДЛЯ ІФА

Кат. №: LUA-EIA.PAAP.96
Кількість -96

Дата випуску інструкції:
2023-11-23
Версія: 1

1.0 ВСТУП

Призначення: кількісне визначення концентрації асоційованого з імуноферментом білка А плазми (PAPP-A) в сироватці людини за допомогою імуноферментного мікропланшетного аналізу, колориметричний метод.

2.0 КОРОТКИЙ ОГЛЯД ТА ПОЯСНЕННЯ

Трисомія 21, 18 і 13 - це три стани, які можуть спричинити несприятливі наслідки для плода, а отже і для немовляти. Скринінг на наявність маркерів та притаманних їм тенденцій тривалий час привертає стійку увагу. Одним з білків, що представляє інтерес з огляду на ці трисомічні розлади, є PAPP-A, асоційований і вагітності білок А плазми. Цей білок можна виявити в сироватці крові кожної людини, але його концентрація зростає в сироватці крові матері в ході прогресування терміну вагітності. У дослідженнях було показано кореляцію між зниженим рівнем PAPP-A та виникненням трисомічних розладів, зокрема трисомії 21, також відомої як синдром Дауна. Сукупно з кількома іншими маркерами, такими як АФП, естріол некон'югований та ХГЛ, було виявлено, що тенденції в PAPP-A вказують на розлади трисомії.

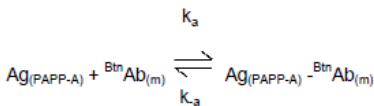
PAPP-A виробляється переважно плацентою під час вагітності. Цей глікопротеїн має молекулярну масу 740 000 і має тенденцію існувати у вигляді гетеротетрамерної димеру з ProMBP, основним базовим білком. Концентрація PAPP-A в крові матері збільшується протягом вагітності, поки плацента і плід ростуть, оскільки є продуктом трофобласту. Загалом, рівень концентрації цього білка в сироватці крові матері свідчить про загрозу переривання вагітності, передчасні пологи, затримку внутрішньоутробного розвитку, позаматкову вагітність, прееклампсію або цукровий діабет. При тестуванні під час першого триместру вагітності PAPP-A є основним маркером синдрому Дауна.

Тест-система від виробника розроблена спеціально для тестування гетеротетрамерної форми, що важливо під час вагітності. Також в сироватці крові існує інша форма PAPP-A, але це димерна форма, яка асоціюється з коронарними та серцевими захворюваннями. Тести розроблені для вагітних не призначені для виявлення цієї димерної форми. Коли проводиться оцінка цього білка, його часто порівнюють з кратним від медіани (MoM) і представляють у відсотках від внутрішньої встановленої медіани. За відсутності зручного доступу до ІРР для PAPP-A цей метод дозволяє простіше порівнювати результати між лабораторіями та методами тестування, що дає змогу встановити тип референсного значення.

3.0 ПРИНЦИП

Імуноферментний секвенційний аналіз (ТИП 4):

Реагенти необхідні для імуноферментного аналізу включають високоафінні і специфічні антітала (фермент-мічені та іммобілізовані) для специфічного розпізнавання різних епітопів, в надлишку, і нативний антиген. У цій процедурі іммобілізація відбувається під час аналізу на поверхні лунки мікропланшета шляхом взаємодії стрептавідину, нанесеного на лунку і екзогенно доданого біотинильованого моноклонального анти-PAPP-A антітала. При змішуванні моноклональних біотинильованих антітел і сироватки, що містить нативний антиген, між нативним антигеном і антіталами відбувається реакція з утворенням комплексу антиген-антітіло. Одночасно біотин, прикріплений до антітала, зв'язується зі стрептавідином, нанесеним на мікролунки, що призводить до іммобілізації комплексу. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:



$B^{tn}Ab_{(m)}$ = Біотинильовані моноклональні антітала (надлишкова кількість)

$Ag_{(PAPP-A)}$ = Нативний антиген (змінна кількість)

$Ag_{(PAPP-A)} - B^{tn}Ab_{(m)}$ = Комплекс антиген-антітіло (змінна кількість)

k_a = Константа швидкості асоціації

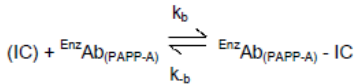
k_d = Константа швидкості дисоціації

$Ag_{(PAPP-A)} - B^{tn}Ab_{(m)}$ + Стрептавідин $c.w.$ $\Rightarrow$ іммобілізований комплекс (ІС)

Стрептавідин $c.w.$ = Стрептавідин іммобілізований на лункках.

Іммобілізований комплекс (ІС) = комплекс Ag-Ab, зв'язаний з твердою поверхнею.

Після завершення необхідного періоду інкубування зв'язану фракцію антітіло-антиген відокремлюють від не зв'язаного антигену за допомогою аспірації або декантації. Додається ще одне антітіло (спрямоване на інший епітоп), мічене ферментом. Відбувається додаткова взаємодія з утворенням міченого ферментом комплексу антітіло-антиген-біотинильоване антітіло на поверхні лунок. Надлишок ферменту змивається на етапі промивання. Додається відповідний субстрат для отримання забарвлення, яке можна виміряти за допомогою мікропланшетного спектрофотометра. Активність ферменту на лунці прямо пропорційна концентрації нативного антигену. Використання декількох референсних рівнів з відомою концентрацією антигену в сироватці крові дозволяє побудувати калібрувальну криву невідомого зразка.



$EnzAb_{(PAPP-A)}$ = Ферментні моноклональні антітала (надлишкова кількість)

$EnzAg_{(PAPP-A)} - IC$ = Комплекс антиген-антітіло

k_b = Константа швидкості асоціації

k_d = Константа швидкості дисоціації

4.0 РЕАГЕНТИ

Матеріали, що постачаються в наборі:

А. Калібратори PAPP-A – 0.5 мл (мл) /флакон - Піктограма А-Ф

Шість (6) флаконів референтної сироватки для PAPP-A з концентраціями 0 (А), 0.64 (В), 1.6 (С), 3.2 (D), 9.6 (E) і 32 (F) у мкг/мл (µg/ml). Містить консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

Примітка: Щоб виконати перетворення мкг/мл (µg/ml) у мМО/л (mIU/L), помножити на 156.25.

Наприклад: 32 мкг/мл (µg/ml) x 156.25 = 5000 мМО/л (mIU/L).

В. Ферментний Реагент PAPP-A – 12 (мл) /флакон - Піктограма «Е»

Один (1) флакон, що містить кон'югат антітел PAPP-A з пероксидазою хрому (HRP) у білково-стабілізуючій матриці з консервантом. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

С. Біотинильований реагент PAPP-A – 12 мл (мл) /флакон - Піктограма «В»

Один (1) флакон, що містить біотинильований моноклональний IgG миші в буфері, з барвником і консервантом. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C). **Примітка: Пацієнти повинні утримуватися від біотининової терапії/добавок протягом 8 годин, щоб запобігти впливу на результати тесту.**

Д. Контроль PAPP-A – 0.5 мл (мл) /флакон - Піктограма «М»

Один (1) флакон референтної сироватки для PAPP-A у визначеній концентрації (точне значення вказано на етикетці). Містить концентрат. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

Е. Ділюент PAPP-A – 5.0 мл (мл) /флакон - Піктограма "U"

Один (1) флакон буферу на основі людської сироватки з солями, поверхнево-активними речовинами та консервантами. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

Ф. Планшет закритий Стрептавідином - 96 лунок - Піктограма - Ψ

Один 96-луночковий мікропланшет, закритий стрептавідином і запакований в алюмінієву фольгу з осушувачем. Зберігати при 2-8 °C (°C).

Г. Концентрат розчин для промивання - 20 мл (мл) /флакон - Піктограма

Один (1) флакон, що містить PAR в фосфатному сольовому буфері. Містить консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

Н. Розчин субстрату – 12 мл (мл) /флакон - Піктограма «S»

Один (1) флакон, що містить тетраметилбензидин (ТМБ) і пероксид водню (H₂O₂) в буфері. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

І. Стоп-розчин – 8 мл (мл) /флакон - Піктограма

Один флакон, що містить сильну кислоту (0.5M H₂SO₄). Зберігати при 2-8 °C (°C).

Ж. Інструкція.

Примітка 1: Не використовувати реагенти після закінчення терміну придатності.

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

Примітка 3: Всі реагенти призначені для формату одного 96-луночкового планшета. Для інших конфігурацій наборів див. таблицю в кінці інструкції.

4.1 Необхідні матеріали, які не постачаються з набором:

1. Мікродозатори, здатні вносити об'єми 0.010 мл (мл) (10 мкл (µl)) 0.050 мл (мл) (50 мкл (µl)) та 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) з точністю, що перевищує 1.5%.

2. Диспенсер(и) для багаторазових внесень об'ємом 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) і 0.350 мл (мл) (350 мкл (µl)) з точністю, що перевищує 1.5%.

3. Мікропланшетний вошер або пляшка-дозатор (опційно).

4. Мікропланшетний рідер з фільтрами 450 нм (nm) і 620 нм (nm).

5. Фільтрувальний папір для висушування лунок мікропланшетів.

6. Плівка або кришка для інкубування мікропланшетів.

7. Вакуумний аспіратор для етапів промивання (опційно).

8. Таймер.

9. Матеріали контролю якості.

5.0 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Набір призначений тільки для діагностики in vitro

Не для внутрішнього або зовнішнього використання на людях або тваринах

В ході застосування схвалених FDA тестувань всі продукти, що містять людську сироватку, продемонстрували негативні результати на наявність антітел до ВІЛ 1 та 2, ВІС і поверхневого антигену гепатиту В. Однак, оскільки не існує методів, що дають повну гарантію відсутності інфекційних агентів, з усіма продуктами людської сироватки слід поводитися з обережністю, як з потенційно небезпечним біоматеріалом, здатним переносити збудники хвороб. Належні лабораторні процедури поводження з продуктами крові можна знайти в Центрі контролю за захворюваннями / Національному інституті охорони здоров'я, «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», 2-е видання, 1988 р., публікація HHS № (CDC) 88-8395.

Безпечна утилізація компонентів набору повинна відповідати місцевим нормативним та законодавчим вимогам.

6.0 ЗАБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразками слугую кров або сироватка різних типів і слід дотримуватися звичайних запобіжних заходів при зборі зразків венепункцією. Для достовірного порівняння із нормальними значеннями повинна бути отримана ранкова сироватка натщесерце. Кров слід збирати в звичайну пробірку з червоним ковпачком для венепункції без добавок або антикоагулянтів. Дати крові згорнутися. Відцентрифугувати зразок, щоб віділити сироватку від клітин.

Зразки можуть зберігатися у холодильнику при 2-8 °C (°C) максимум до 5 днів. Якщо зразок(и) неможливо аналізувати протягом цього часу, зразок (зразки) можуть зберігатися при температурі -20 °C (°C) до 30 днів. Слід уникати використання забруднених пристроїв. Уникати повторного заморожування та розморожування. Для аналізу в дублях потрібно 0.020 мл (мл) зразка.

У пацієнтів, які отримують терапію високими дозами біотину (тобто >5 мг (mg)/добу, зразок не слід брати щонайменше протягом 8 годин після останнього прийому біотину, зокрема на ніч, щоб забезпечити пробу натщесерце.

7.0 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна проводити аналіз контролів на рівнях низького, середнього та високого діапазонів для контролю ефективності аналізу. Ці контролі повинні досліджуватися як невідомі зразки із отриманим значенням в кожній постановці аналізу. Повинні будуватися графіки контролю якості для відстеження характеристик реагентів, що постачаються. Слід застосовувати прийнятні статистичні методи для виявлення відхилень. Кожна лабораторія повинна встановити прийнятні межі ефективності аналізу. Крім того, максимальна абсорбція має узгоджуватися із попередніми даними. Значні відхилення від встановлених характеристик можуть свідчити про непомічні зміни в умовах експерименту або зниження якості реагентів набору. Для визначення причини змін повинні бути використані свіжі реагенти.

8.0 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. Буфер для промивання

Розвести концентрат розчину для промивання до 1000 мл (мл) дистильованою або деіонізованою водою у відповідному контейнері для зберігання. Зберігати при кімнатній температурі (2-30 °C (°C)) до 60 днів.

Примітка 1: Не використовувати робочий субстрат, якщо він набув блакитного забарвлення.

Примітка 2: Не використовувати реагенти, які мають ознаки забруднення чи бактеріального росту.

9.0 ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ

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

****Процедура тестування повинна виконуватися кваліфікованим фахівцем**.**

1. Підготувати необхідну кількість лунок мікропланшета для кожної референсної сироватки, контролю та зразків пацієнтів для дослідження в дублях. Повернути невикористані лунки і служки назад в алюмінієвий пакет, герметично закрити та зберігати при температурі 2-8 °C (°C).
2. Внести піпеткою по 0.010 мл (мл) (10 мкл (µl)) відповідного референсного калібратора сироватки, контролю та зразка пацієнта у відповідні лунки.
3. Внести 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) біотинного реагенту PAPP-A в кожну лунку.
4. Обережно обертати мікропланшет протягом 20-30 секунд, щоб перемішати вміст, потім щільно закрити.
5. Інкубувати протягом 30 хвилин при кімнатній температурі.
6. Видалити вміст мікропланшета шляхом декантації або аспірації. Якщо використовувалася декантація, постукувати та висушити планшет абсорбуючим папером.
7. Внести 0.350 мл (мл) (350 мкл (µl)) буфера для промивання (див. розділ «Підготовка реагентів»), виконати декантацію (постукувати і висушити) або аспірацію. Повторити процедуру ще чотири (4) рази (загальна кількість циклів промивки – п'ять (5)). Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника. Якщо використовується пляшка-дозатор, необхідно заповнити кожну лунку, витискаючи контейнер (уникати утворення повітряних бульбашок), щоб розподілити розчин. Декантувати розчин для промивання і повторити ще два (2) рази.
8. Внести по 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) ферментного реагенту PAPP-A в кожну лунку.
9. Щільно закрити та інкубувати протягом тридцяти (30) хвилин при кімнатній температурі.
10. Видалити вміст мікропланшета шляхом декантації або аспірації. Якщо використовувалася декантація, постукувати та висушити планшет абсорбуючим папером.
11. Внести 0.350 мл (мл) (350 мкл (µl)) буфера для промивання (див. розділ «Підготовка реагентів»), виконати декантацію (постукувати і висушити) або аспірацію.
12. Повторити процедуру ще чотири (4) рази (загальна кількість циклів промивки – п'ять (5)). Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника.
13. Якщо використовується пляшка-дозатор, необхідно заповнити кожну лунку, витискаючи контейнер (уникати утворення повітряних бульбашок), щоб розподілити розчин. Декантувати розчин для промивання і повторити ще чотири (4) рази.
14. Внести в кожну лунку 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) розчину субстрату. Завжди вносити реагенти в однаковому порядку, щоб мінімізувати різницю в часі реакції між лунками.
15. НЕ СТРУШУВАТИ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ВНЕСЕННЯ СУБСТРАТУ
15. Інкубувати протягом 15-20 хвилин при кімнатній температурі.
16. Внести в кожну лунку 0.050 мл (мл) (50 мкл (µl)) стоп-розчину і обережно перемішати протягом 15-20 секунд. Завжди вносити реагенти в однаковому порядку, щоб мінімізувати різницю в часі реакції між лунками.
17. Зчитати значення абсорбції в кожній лунці на довжині хвилі 450 нм (nm) (вимірювання проводити при референсній довжині хвилі 620-630 нм (nm)). Зчитати результати протягом п'ятнадцяти (15 хвилин) після внесення стоп-розчину.

Примітка: Розвести зразки, концентрація яких очікувано перевищує 32 мкг/мл (µg/ml) ділюментом PAPP-A і помножити результат на коефіцієнт розведення. Для розведення 1:5 додати 40 мкл (µl) ділюента до 10 мкл (µl) зразка високої концентрації.

10.0 ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Для визначення концентрації PAPP-A в невідомих зразках використовується калібрувальна крива доза-ефект.

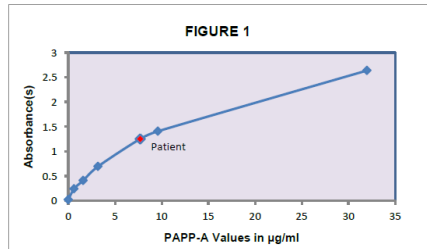
1. Записати абсорбцію, отриману з роздруківки мікропланшетного рідера, як описано в Прикладі 1.
2. Побудувати графік абсорбції для кожного референсного матеріалу сироватки в дублях проти відповідної концентрації PAPP-A у мкг/мл (µg/ml) на міліметровому папері (перед побудовою графіка не виводити середнє дублів референсного матеріалу сироватки).
3. Накреслити через прокладені точки криву, яка найкраще підходить.

4. Концентрація відповідної концентрації RAPP-A для кожного невідомого зразка залежить від середнього значення абсорбції дублів на вертикальній осі графіка і точки перетину на кривій. Необхідно зчитати концентрацію (у мкг/мл) (μg/ml) з горизонтальної осі графіка (може бути виведене середнє дублів невідомих зразків, якщо це зазначено в інструкції). У наведеному нижче прикладі середня абсорбція (1.251) перетинає калібрувальну криву при концентрації RAPP-A при (7.7 мкг/мл) (μg/ml) (див. Мал.1).

Примітка: Якщо для обробки результатів аналізу даних ІФА використовується комп'ютер, необхідно виконати процедуру валідації програмного забезпечення.

ПРИКЛАД 1				
ID Зразка	Лунка	Абсорбція (A)	Середнє абсорбції (B)	Значення (нг/мл (ng/ml))
Cal A	A1	0.019	0.021	0
	A2	0.022		
Cal B	B1	0.208	0.243	0.64
	B2	0.277		
Cal C	A6	0.421	0.410	1.6
	B6	0.399		
Cal D	C6	0.696	0.695	3.2
	D1	0.693		
Cal E	E1	1.420	1.406	9.6
	E2	1.391		
Cal F	F1	2.625	2.636	32.0
	F2	2.644		
Ctrl # 1	C3	0.880	0.895	4.6
	D3	0.910		
Ctrl # 2	E3	1.675	1.787	11.6
	F3	1.898		
Пацієнт	G1	1.306	1.251	7.7
	H1	1.196		

Cal – Калібратор, Ctrl – контроль



$$\frac{\text{Absorbance(s)} - \text{Абсорбція(І)}}{\text{RAPP-A Values in } \mu\text{g/ml} - \text{Значення RAPP-A в мкг/мл}} = \frac{\text{Patient} - \text{Пацієнт}}{\text{Patient} - \text{Пацієнт}}$$

* Дані наведені в прикладі і малюнку призначені тільки для ілюстрації і не повинні використовуватися для підрахунку результатів.

11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Результати аналізу можна вважати достовірними, якщо дотримуються наступні умови:

- 1. Абсорбція (оптична густина) калібратора «F» 32 мкг/мл (μg/ml) має становити ≥ 1.3.
- 2. Чотири з шести контрольних пулів якості повинні не виходити за межі визначеного діапазону.

12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

Форма MSDS та аналізу ризиків для цього продукту доступна за запитом від виробника.

12.1 Ефективність аналізу

1. Для відтворюваності результатів важливо, щоб час реакції підтримувався постійним в кожній лунці.

- 2. Піпетування зразків не повинно перевищувати десять (10) хвилин, щоб уникнути «дрейфування» аналізу.
- 3. Не використовувати високо ліпемічні, гемолізовані або забруднені зразки.
- 4. Якщо використовується більше, ніж один (1) планшет, рекомендується повторити калібрувальну криву.
- 5. 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.
- 6. Зчитування на рідері проходить вертикально. Не торкатися дна лунок.
- 7. Неповне видалення зв'язуючого розчину під час аспірації або декантації може призводити до невідтворюваних і недостовірних результатів.
- 8. Використовувати компоненти тільки з однієї партії. Не змішувати реагенти з різних партій.
- 9. Правильне і точне піпетування, а також дотримання точного часу і температурних вимог є необхідними умовами. Будь-які відхилення від встановлених виробником інструкцій можуть давати невірні результати.
- 10. Для забезпечення відповідності та належного використання пристрою необхідно суворо дотримуватися всіх застосованих національних стандартів, правил і законів, включаючи належні лабораторні процедури, але не обмежуючись ними.
- 11. Важливим є калібрування всього обладнання, тобто, дозаторів, рідера, вошера та/або автоматизованих інструментів, які використовуються з даним пристроєм. Також обов'язковим є регулярний технічний огляд пристрою.
- 12. (Видалено).

12.2 Інтерпретація результатів

- 1. **Вимірювання та інтерпретація результатів повинні проводитися кваліфікованими фахівцями.**
- 2. Лабораторні результати не можуть слугувати єдиним критерієм для визначення лікування, особливо, якщо отримані результати не співпадають з іншими дослідженнями.
- 3. Реагенти для тестових процедур були розроблені для максимального усунення інтерференції; однак, потенціальна взаємодія між деякими 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. Для діагностичних цілей, результати цього аналізу повинні бути використані в поєднанні з клінічним обстеженням пацієнта, історією і всіма іншими клінічними даними.
- 4. Для отримання дійсних результатів прийнятні контролю та інші показники повинні знаходитися в межах встановлених норм.
- 5. Реагенти не несуть відповідальності за результати тесту в разі, якщо складові набору були замінені іншими складовими з інших наборів, що спричинило хибні результати, або якщо результати були інтерпретовані невірно.
- 6. Якщо для обробки результатів тесту використовується комп'ютер, то обчислювані значення калібраторів не повинні відхилятися більш, ніж на 10% від закладених значень концентрації.

13.0 ОЧІКУВАНИЙ ДІАПАЗОН ЗНАЧЕНЬ

Відповідно до встановлених референсних інтервалів для дорослої популяції з уявною нормою, очікувані діапазони для тест-системи наведені в Таблиці 1.

Рекомендується порівнювати значення на основі кратної медіани (MoM) встановленої для лабораторії при оцінці зразків пацієнтів. Ділення значення зразка пацієнта на MoM дасть значення у відсотках, яке часто використовується для оцінки.

ТАБЛИЦЯ 1
Очікувані значення для тест-системи

Термін вагітності (повних тижнів)	Концентрація RAPP-A (у мкг/мл) (μg/ml)
9	3.86
10	7.1
11	10.1
12	16.68
13	23.2

Важливо мати на увазі, що встановлений діапазон значень, який можна очікувати у даної популяції людей з уявною нормою з використанням даного методу залежить від безлічі факторів: специфічності методу, популяції, яка тестується, і точності методу в руках лаборанта. З цих причин кожна лабораторія повинна покладатися на діапазон очікуваних значень встановлений виробником лише до тих пір, поки аналітики не визначать внутрішній діапазон за допомогою методу на основі даних місцевої популяції.

14.0 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

14.1 Точність

Точність цього тест-набору була визначена за допомогою аналізу шести різних рівнів зведеної контрольної сироватки і сироватки пацієнтів. Середні значення, стандартне відхилення та коефіцієнт варіації для кожної з цих контрольних сироваток наведені в Таблиці 2.

ТАБЛИЦЯ 2
Точність тест-системи

Зразок	Середнє значення (нг/мл) (pg/ml)	Точність в межах аналізу		Загальна точність (n=80)	
		SD	CV%	SD	CV%
Контроль 1	0.69	0.03	3.65	0.05	7.89
Контроль 2	2.17	0.14	6.29	0.20	9.33
Контроль 3	8.25	0.42	5.11	0.60	7.29
Пацієнт 1	1.35	0.05	3.68	0.13	9.51
Пацієнт 2	5.12	0.22	4.24	0.43	8.49
Пацієнт 3	28.02	1.51	5.39	2.60	9.29

* вимірювання проводились в 40 експериментах в дублях протягом 20 днів

14.2 Чутливість

LoB/LoD/LoQ тест-системи були обчислені відповідно до протоколів CLSI EP17-A2 для визначення меж виявлення меж кількісного визначення. LoB становить 0,019 мкг/мл (μg/ml), а LoD=LoQ=0,074 мкг/мл (μg/ml).

14.3 Достовірність

14.3.1 Лінійність

Лінійність тест-системи тестували шляхом розведення зразків сироватки крові людини, що містять високий рівень RAPP-A (від 10 до 37 мкг/мл (μg/ml)), ділюентом з низьким вмістом RAPP-A. Система забезпечує позитивну лінійність у всьому діапазоні тесту до 37 мкг/мл (μg/ml).

14.3.2 Відновлення

Відновлення тест-системи було обчислено для п'яти зразків пацієнтів з концентрацією RAPP-A 0.5, 2.0, 4.0, 10.0 та 30.0 мкг/мл (μg/ml). Було визначено, що відновлення знаходиться в межах 15% від очікуваних значень для всіх зразків.

14.3.3 Порівняння методів

Тест-систему порівнювали з референсним методом імуноферментного аналізу. Використовувалися біологічні зразки з популяції з низьким, нормальним і відносно високим рівнем RAPP-A; значення варіювалися від 0,1 мкг/мл (μg/ml) до 36 мкг/мл (μg/ml). Загальна кількість таких зразків становила 50. Для поточного набору було обчислено рівняння найменших квадратів регресії та коефіцієнт кореляції у порівнянні з референсним методом.

ТАБЛИЦЯ 4

Метод	Середнє	Рівняння регресії найменших квадратів	Коефіцієнт кореляції
Виробник (y)	6.52	y = 0.34 + 0.97 (x)	0.992
Метод порівняння (X)	6.68		

14.4 Специфічність

Перехресну реактивність % антитіл RAPP-A до обраних речовин оцінювали шляхом внесення інтерферуючої речовини до сироваткового матриксу в різних концентраціях. Перехресну реактивність обчислювали, виводячи співвідношення між дозами інтерферуючої речовини і дозою RAPP-A, необхідною для витіснення такої ж кількості міченого аналога.

ТАБЛИЦЯ 5

Речовина	Перехресна реактивність
Вільний бета-ХГЛ	ND
АФП	ND
Пролактин людини	ND
ФСГ	ND

Фасування		96
Реагент (заповнення)	A)	0,5 мл (набір) / 0,5 мл (set)
	B)	1 (12 мл) / 1 (12 мл)
	C)	1 (12 мл) / 1 (12 мл)
	D)	0,5 мл (набір) / 0,5 мл (set)
	E)	1 (5.0 мл) / 1 (5.0 мл)
	F)	1 планшет
	G)	1 (20 мл) / 1 (20 мл)
	H)	1 (12 мл) / 1 (12 мл)
	I)	1 (8 мл) / 1 (8 мл)

Умовні позначення

	Зверніться до інструкції з використання		Кат. №
	Тільки для in vitro діагностики		Використати до
	Зберігати від +2°C (°C) до +8°C (°C)		№ партії
	Дата виготовлення		Виробник



ВИРОБНИК:
ТОВ «ЛАБУЮЄ»
вул. Петлюри, будинок 25,
м. Івано-Франківськ, 76018, Україна
Тел.: +380 (67) 000-20-22
Електронна адреса: info@labua.com.ua



UA.TR.116

12625-300A 20221123.3