



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

Кат. №: **LUA-CLIA.PAPP.192**
Кількість : **192**

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

1.0 ВСТУП

Призначення: кількісне визначення концентрації асоційованого з вагітністю білка А плазми (PAPP-A) в сироватці людини за допомогою імунохемілюмінесцентного аналізу.

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 увагу. Одним з білків, що представляє інтерес з огляду на причини трисомії, є PAPP-A, асоційований з вагітністю 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 зниженням 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 гетеротетрамерного димеру з ProMVP, 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 внутрішньоматричного розвитку, позаматкову вагітність, преєклампсію або цукровий діабет. При тестуванні під час першого триместру вагітності PAPP-A є основним маркером синдрому Дауна.

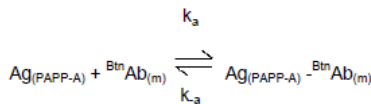
Тест-система від виробника розроблена спеціально для тестування гетеротетрамерної форми, що валиво під час вагітності. Також в сироватці крові існує інша форма PAPP-A, але це димерна форма, яка асоційована з коронарними та серцевими захворюваннями. Тести розроблені для вагітних не призначені для виявлення 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 скенвційний аналіз (ТИП 4):

Реагенти необхідні для імуноферментного аналізу включають високоафінні і специфічні антитіла (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 біотинільованого моноклонального анти-PAPP-A антитіла.

При змішуванні моноклональних біотинільованих антитіл і сироватки, що містить нативний антиген, між нативним антигеном і антитілами відбувається реакція з утворенням комплексу антиген-антитіло. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:



$B^{tn}Ab_{(m)}$ = Біотинільований моноклональний антитіла (надлишкова кількість)

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

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

k_a = Константа швидкості асоціації

k_{-a} = Константа швидкості дисоціації

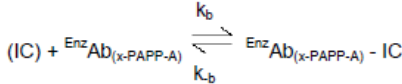
Одночасно комплекс осаджується в лунці завдяки високоафінній реакції стрептавідину та біотинільованого антитіла. Ця взаємодія проілюстрована нижче:

$Ag_{(IgE)} - B^{tn}Ab_{(m)} +$ Стрептавідин $\xrightarrow{c.W.}$ іммобілізований комплекс (IC)

Стрептавідин c.W. = Стрептавідин іммобілізований на лунках.

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

Після завершення необхідного періоду інкубування зв'язану фракцію антитіло-антиген відокремлюють від незв'язаного антигену за допомогою аспірації або декантації. Додається ще одне антитіло (спрямоване на інший епітоп), мічене ферментом. Відбувається додаткова взаємодія з утворенням міченого ферментом комплексу антитіло-антиген-біотинільоване антитіло на поверхні лунк. 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.



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

$EnzAb_{(x-PAPP-A)} - IC$ = Комплекс антиген-антитіло

k_a = Константа швидкості асоціації

k_{-a} = Константа швидкості дисоціації

4.0 РЕАГЕНТИ

Матеріали, що постачаються в наборі:

А. Калібратори PAPP-A – 0.5 мл (мл) /флакон - Піктограми А-F

Шість (6) флаконів референтної сироватки для PAPP-A з концентраціями 0 (А), 0.64 (В), 1.6 (С), 3.2 (D), 9.6 (Е) і 32 (F) у мкг/мл (µg/ml). Містить консервант. Зберігати при 2-8 °С (°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. Трейсер-реагент PAPP-A – 12 мл (мл) /флакон - Піктограма «В»

Один (1) флакон, що містить кон'югат аналога PAPP-A до пероксидази хрому (HRP) у білково-стабілізуючій матриці. Зберігати при температурі 2-8 °С (°C).

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

Один (1) флакон, що містить біотинільований моноклональний IgG миші в буфері, і барвником і консервантом. Зберігати при температурі 2-8 °С (°C). **Примітка: Пацієнти повинні утримуватися від біотинової 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 °С (°C).

Е. Ділюент PAPP-A – 5.0 мл (мл) /флакон - Піктограма «У»

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

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

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

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

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

Н. Сигнальний реагент А- 7 мл (мл) /флакон - Піктограма «С^А»

Один (1) флакон, що містить люмінол в буфері. Зберігати при температурі 2-8 °С (°C). (Див. Розділ «Підготовка реагентів»).

І. Сигнальний реагент В- 7 мл (мл) /флакон - Піктограма «С^В»

Один (1) флакон, що містить перекис водню (H₂O₂) в буфері. Зберігати при температурі 2-8 °С (°C). (Див. Розділ «Підготовка реагентів»).

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 °С (°C). Стабільність набору та компонентів зазначені на етикетці.**

Примітка 3: Всі реагенти призначені для формату одного 96-луночкового планшета.

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 спектрофотометр.

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 антитіл до BPL1 та 2, BFC 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 NHS № (CDC) 88-8395.

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

6.0 ЗАБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразками слугуватимуть кров або сироватка різних типів і слід дотримуватися звичайних запобіжних заходів при зборі зразків венопункцією. Для достовірного порівняння із нормальними значеннями повинна бути отримана ранкова сироватка натщесерце. Кров слід зібрати в звичайну пробірку з червоним ковпачком для венопункції без добавок або антикоагулянтів. Можна використовувати пробірку з червоним ковпачком для гелевого сепаратора. Дати крові згорнутися. Відцентрифугувати зразок, щоб відділити сироватку від клітин.

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

У пацієнтів, які отримують терапію високими дозами біотину (тобто >5 мг (тг)/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 отриманими значеннями 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 непомічені 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. Розведений буфер можна зберігати при кімнатній температурі (2-30 °С (°C)) до 60 днів.

2. **Робочий розчин сигнального реагенту** - Зберігати при 2 - 8 °С (°C). Визначити необхідну кількість реагенту та приготувати його, змішавши рівні порції Сигнального реагенту А та Сигнального реагенту В у чистому контейнері. Наприклад, додати 1 мл (мл) А і 1 мл (мл) В по дві (2) служки на вісім лунк (готується невеликий надлишок розчину). **Утилізувати невикористану порцію, якщо вона не була використана протягом 36 годин після змішування.** Якщо

передбачається повне використання реагентів протягом зазначеного вище часу, необхідно вилити вміст Сигнального реагенту В в Сигнальний реагент А і промаркувати його відповідним чином.

9.0 ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ

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

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

1. Підготувати необхідну кількість лунк 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 °С (°C).**
2. Внести піпеткою по 0.010 мл (мл) (10 мкл (µl)) відповідного референсного калібатора сироватки, контролю та зразка пацієнта у відповідні лунки.
3. Внести 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) біотинового реагенту PAPP-A в кожну лунку.
4. Обережно обертати мікропланшет протягом 20-30 секунд, щоб перемішати вміст.
5. Щільно закрити та 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 (постукати 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 чотири (4) рази.**
8. Внести по 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) трейсер-реагенту PAPP-A в кожну лунку.
9. **НЕ СТРУШУВАТИ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ВНЕСЕННЯ ТРЕЙСЕР РЕАГЕНТУ**
10. Щільно закрити та інкубувати протягом тридцяти (30) хвилин при кімнатній температурі.
11. Видалити вміст мікропланшета шляхом декантації або аспірації. Якщо використовувалася декантація, постукувати та висушити планшет абсорбуючим папером.
12. Внести 0.350 мл (мл) (350 мкл (µl)) буфера для промивання (див. розділ «Підготовка реагентів»), виконати декантацію (постукати і висушити) або аспірацію.
13. 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 чотири (4) рази.**
14. Внести в кожну лунку 0.100 мл (мл) (100 мкл (µl)) сигнального реагенту. **Завжди вносити реагенти в однаковому порядку, щоб мінімізувати різницю в часі реакції між лунками.**
15. **НЕ СТРУШУВАТИ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ВНЕСЕННЯ СИГНАЛЬНОГО РЕАГЕНТУ**
16. Інкубувати протягом 5 (п'яти) хвилин при кімнатній температурі у темному місці.
17. Читати значення у відносних світлових одиницях (RLU) в кожній лунці протягом 0.2 – 1.0 секунд. **Результати необхідно читати протягом тридцяти (30) хвилин після внесення розчину сигнального реагенту.**

Примітка 1: Не використовувати робочий розчин сигнального реагенту, який зберігається більше ніж 36 годин.

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

Примітка 3: Циклічне (старт-стоп) перемішування (4 цикли) протягом 5-8 секунд/цикл є більш ефективним, ніж один безперервний (20-30 секунд) цикл для досягнення однорідності. Для виконання циклів перемішування можна використовувати мікропланшетний змішувач.

Примітка 4: Надзвичайно важливо точно дозувати правильний об'єм за допомогою відкаліброваного мікродозатора і вносити реагент біля дна мікролунки під кутом, торкаючись бокового краю лунки.

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

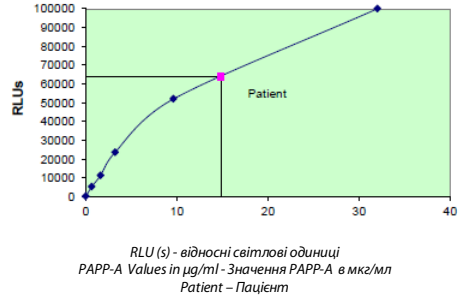
10.0 ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

- Для визначення концентрації PAPP-A в невідомих зразках використовується калібрувальна крива доза-ефект.
- Записати абсорбцію, отриману з роздруківки мікропланшетного рідера, як описано в Прикладі 1.
 - 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).
 - Накреслити через прокладені точки криву, яка найкраще підходить.
 - Концентрація відповідної концентрації PAPP-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 зразка пацієнта (526341) перетинає калібрувальну криву при концентрації PAPP-A при (10,5 мкг/мл) (µg/ml) (див. Мал.1).

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

ПРИКЛАД 1				
ID Зразка	Лунка	RLU (A)	Середнє RLU (B)	Значення (мкг/мл (µg/ml))
Cal A	A1	206	223	0
	A2	240		
Cal B	B1	5517	5342	0.64
	B2	5167		
Cal C	A6	10425	11300	1.6
	B6	12175		
Cal D	C6	24329	23598	3.2
	D1	22866		
Cal E	E1	51308	51967	9.6
	E2	52626		
Cal F	F1	103380	100000	32.0
	F2	96620		
Ctrl # 1	C3	30070	31118	4.8
	D3	32165		
Ctrl # 2	E3	69117	71366	19.1
	F3	73615		
Пацієнт	G1	65193	64036	14.8
	H1	62878		

Cal – Калібратор, Ctrl - контроль



* Дані представлені в Прикладі 1 та на Рисунок 1 наведені лише для ілюстрації і **не повинні** використовуватися замість калібрувальної кривої, що готується для кожного аналізу. Додатково, значення RLU калібраторів були нормалізовані до 100 000 RLU для калібратора F (найбільший світловий потік). Таке перетворення мінімізує відмінності, спричинені характеристиками різних приладів, що можна використовувати для вимірювання світлового потоку.

11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Результати аналізу можна вважати достовірними, якщо дотримуються наступні умови:

- Калібрувальна крива повинна перебувати в межах встановлених показників.
- Чотири з шести контрольних пулів якості повинні не виходити за межі визначеного діапазону.

12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

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

12.1 Ефективність аналізу

- Для відтворюваності результатів важливо, щоб час реакції підтримувався постійним в кожній лунці.
- Піпетування зразків не повинно перевищувати десять (10) хвилин, щоб уникнути «дрейфування» аналізу.
- Не використовувати високо ліпемічні, гемолізовані або забруднені зразки.
- Якщо використовується більше, ніж один (1) планшет, рекомендується повторити калібрувальну криву.
- Додавання розчину сигнального реагенту ініціює кінетичну реакцію. Отже, додавання цього розчину повинно проводитися в однаковій послідовності для усунення відмінностей у часі реакції.
- Неповне видалення зв'язуючого розчину під час аспірації або декантації може призводити до невідтворюваних і недостовірних результатів.
- Використовувати компоненти тільки з однієї партії. Не змішувати реагенти з різних партій.
- 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.
- 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.
- 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.
- (Видалено).

12.2 Інтерпретація результатів

- Вимірювання та інтерпретація результатів повинні проводитися кваліфікованими фахівцями.**
- Лабораторні результати не можуть слугувати єдиним критерієм для визначення лікування, особливо, якщо отримані результати не співпадають з іншими дослідженнями.
- 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 хвороби і всіма іншими клінічними даними.
- Для отримання дійсних результатів прийнятні контролю та інші показники повинні знаходитися в межах встановлених норм.
- Виробник не несе 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.
- 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 PAPP-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 (мкг/мл) (µg/ml)	Точність в межах аналізу		Загальна точність (n=80)	
		SD	CV%	SD	CV%
Контроль 1	0.66	0.04	6.03	0.07	9.96
Контроль 2	2.14	0.12	5.41	0.18	8.48
Контроль 3	8.49	0.52	6.12	0.83	9.83
Пацієнт 1	1.26	0.10	7.91	0.13	9.92
Пацієнт 2	5.06	0.26	5.08	0.50	9.90
Пацієнт 3	28.25	1.70	6.01	2.75	9.73

*вимірювання проводились в 40 експериментах в дублях протягом 20 днів

14.2 Чутливість

Значення LoB/LoD/LoQ тест-системи були обчислені відповідно до протоколів CLSI EP17-A2 для визначення меж виявлення меж кількісного значення. LoB становить 0.011 мкг/мл (µg/ml), a LoD=LoQ=0.071 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 PAPP-A (від 10 до 37 мкг/мл (µg/ml)), ділюентом з низьким вмістом PAPP-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 PAPP-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 імуоферментного аналізу. Використовувалися біологічні зразки з популяції з низьким, нормальним і відносно високим рівнем PAPP-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 PAPP-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 PAPP-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

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



UA.TR.116

12675-300B 20230227.2