

MAGLUMI™ — коллаген IV типа (ХЛИА)

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный комплект реагентов предназначен для проведения хемилюминесцентного иммуноанализа *in vitro* с целью количественного определения коллагена IV типа (CIV) в сыворотке крови человека с помощью автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI (включая модели Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000 и Maglumi 4000 Plus).

КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ

Коллаген IV, как один из многих белков внеклеточного матрикса, продуцируется фибробластами, эндотелиальными клетками и эпителиальными клетками. Это гетеротримерная молекула, содержащая две $\alpha 1$ -подобных и одну $\alpha 2$ -подобную цепь. Целевые композиции коллагена IV связаны с шестью генами (COL4A1, COL4A2, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL4A6), что указывает на существование дополнительных альфа-цепей к структурам и функциям коллагена^{1,2}. Тип IV встречается главным образом в базальных мембранах многих тканей и органов, включая печень, почки и кожу. Он функционирует для поддержания структурной целостности клеток, тканей и органов. Структурные изменения коллагена IV связаны со многими заболеваниями, такими как нефритический синдром, гемоптизис, фиброз печени, субэпидермальная пузырчатка и диабетическая нефропатия^{3,6}.

Коллаген IV синтезируется во время ангиогенеза и осаждается вокруг эндотелиальных клеток и перicyтов и может рассматриваться как маркер ангиогенной активности⁷. Повышенные уровни коллагена IV также были зарегистрированы у пациентов с циррозом печени и хроническими заболеваниями почек по сравнению со здоровыми людьми⁴. Дегградация этого белка происходит во время инвазии и метастатического распространения рака. Высокие уровни коллагена IV были обнаружены в сыворотке пациентов с метастатическим раком молочной железы, колоректальным, желудочным и раком легких, а также с первичным раком печени. Исследования показали, что потеря коллагена IV в базальной мембране (с одновременным увеличением активности коллагеназы) положительно коррелирует с прогрессированием рака. Коллаген IV в сыворотке может свидетельствовать о дегградации коллагена IV ткани и может коррелировать с прогрессированием рака⁸⁻¹¹.

Цирроз печени характеризуется чрезмерным отложением коллагена, приводящим к фиброзу. Хотя концентрация коллагена различных типов (типа I, III, IV и V) увеличивается в печени с прогрессированием фиброза, коллаген IV типа синтезируется одним из первых при экспериментальном надрезе. Это делает показатели содержания коллагена IV в сыворотке крови полезными биомаркерами при исследовании повреждений печени и фиброза⁴.

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Анализ на коллаген IV типа представляет собой хемилюминесцентный иммунологический сэндвич-анализ.

Проба (либо, в соответствующих случаях, калибратор или контроль), буфер, моноклональные антитела к коллагену IV, меченые аминобутил-этил-изолюминомом (АВЕI), и магнитные микрочастицы, покрытые другими моноклональными антителами к коллагену IV, тщательно перемешиваются и инкубируются при температуре 37 °C для формирования сэндвич-комплексов. После осаждения частиц в магнитном поле надосадочная жидкость фильтруется, а затем выполняется цикл промывки. После этого добавляются стартовые реагенты 1 и 2 для начала хемилюминесцентной реакции. Световой сигнал измеряется в течение 3 секунд в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи фотоумножителя. Полученное количество ОСЕ пропорционально концентрации коллагену IV в пробе (либо, в соответствующих случаях, в калибраторе/контроле).

СОСТАВ КОМПЛЕКТА

Предоставляемые материалы

Компоненты	Состав	100 тестов (номер по каталогу: 130209003M)	50 тестов (номер по каталогу: 130609003M)
Магнитные микрочастицы	Магнитные микрочастицы, покрытые моноклональными антителами к коллагену IV; в буфере, содержащем бычий сывороточный альбумин (БСА) и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор низкой концентрации	Содержит БСА, антиген коллагена IV и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор высокой концентрации	Содержит БСА, антиген коллагена IV и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Буфер	Содержит БСА и NaN ₃ (<0,1 %).	6,5 мл	4,0 мл
Моноклональные антитела, меченые АВЕI	Моноклональные антитела к коллагену IV, меченые АВЕI, содержащие БСА и NaN ₃ (<0,1 %).	6,5 мл	4,0 мл
Внутренний контроль качества	Содержит БСА, антиген коллагена IV и NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 мл	2,0 мл

Все реагенты поставляются готовыми к использованию.

Необходимые дополнительные принадлежности, не входящие в комплект поставки

Анализаторы серии MAGLUMI:

Реакционный модуль	Номер по каталогу: 630003
Стартовые реагенты 1 и 2	Номер по каталогу: 130299004M
Промывочный концентрат	Номер по каталогу: 130299005M
Раствор для проверки светового сигнала	Номер по каталогу: 130299006M

Дополнительные принадлежности заказываются у компании Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) или ее официальных представителей.

КАЛИБРОВКА

Обеспечение отслеживаемости: данный анализ был стандартизован относительно внутреннего референсного стандарта компании SNIBE. Проверка калибраторов для определенных анализов позволяет получить значение ОСЕ для корректировки заданной основной кривой. Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, которая выстраивается в процессе двухточечной калибровки, и основной калибровочной кривой (10 калибровок), считанной с метки для радиочастотной идентификации реагента (RFID-метка).

Повторную калибровку рекомендуется проводить в следующих случаях:

- Перед началом использования новой партии (реагентов для анализа или стартовых реагентов 1 и 2).
- Каждые 2 недели и/или перед началом использования нового комплекта реагентов (рекомендуется).
- После проведения необходимого обслуживания системы.
- При выходе контроля за рамки установленного диапазона ожидаемых значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Периодичность проведения процедур контроля качества установлена нормативными актами или аккредитационными требованиями.

Внутренний контроль качества предназначен только для систем MAGLUMI. Инструкции по применению и целевые значения содержатся в документе **со сведениями о контроле качества хемиллюминесцентного иммунологического анализа (ХЛИА) на коллаген IV**. При интерпретации результатов пользователь должен ориентироваться на собственные стандарты и знания.

Подробная информация о вводе значений для контроля качества содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемиллюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Для контроля работы системы и построения диаграмм трендов необходимо использовать имеющиеся на рынке материалы для контроля качества. Правила обращения с пробами для контроля качества аналогичны правилам, установленным для проб пациентов. Считается, что система функционирует удовлетворительно, если получаемые значения концентрации аналита находятся в пределах допустимого контрольного диапазона, установленного для системы, или в пределах диапазона, установленного конкретной лабораторией в соответствии с надлежащей внутренней схемой контроля качества. Результаты процедур контроля качества, выходящие за пределы диапазона ожидаемых значений или диапазона измерения, установленного конкретной лабораторией, не включаются в отчет. Выполните следующие действия:

- Убедитесь, что не истек срок годности материалов.
- Убедитесь, что выполнялось необходимое техническое обслуживание.
- Убедитесь, что анализ был выполнен в соответствии со всеми инструкциями.
- Выполните анализ повторно, используя свежие пробы для контроля качества.
- При необходимости обратитесь за помощью в местную службу технической поддержки или к официальному дистрибьютору компании.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

- Используйте стандартные пробирки для проб или пробирки с разделительным гелем. Забор крови выполняется асептически с соблюдением универсальных мер предосторожности при венепункции.
- Центрифугирование выполняется только после полного образования тромба (сгустка крови) в образцах сыворотки. Некоторые образцы, особенно взятые у пациентов, получающих антикоагулянтную или тромболитическую терапию, могут демонстрировать повышенное время свертывания.
- При выполнении центрифугирования образцов до полного образования тромба возможно получение неверных результатов анализа из-за наличия фибрина. Пробы не должны содержать фибрин и другие твердые частицы.
- Не используйте гемолизированные образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы или большое количество липидов либо демонстрирующие признаки микробного загрязнения. Проверяйте все образцы на предмет наличия в них пузырьков воздуха и удаляйте пузырьки перед проведением анализа для получения оптимальных результатов.
- Избегайте повторного размораживания и замораживания образцов. Цикл заморозки-разморозки образцов сыворотки можно повторять только два раза. После размораживания образцы должны быть тщательно перемешаны.
- Если после центрифугирования проба покрылась липидным слоем, ее следует перенести в кювету для анализа или дополнительную пробирку. Необходимо следить за тем, чтобы при переносе очищенной пробы молекулы липидов не попали в кювету или пробирку.
- Анализ любых проб (контролей или образцов, взятых у пациентов) должен быть выполнен в течение 3 часов после загрузки пробы в систему MAGLUMI. За более подробной информацией о хранении проб в аппарате обращайтесь в сервисный центр компании SNIBE.
- После отделения разделительного геля, клеток крови или сгустков пробы можно хранить до 24 часов при температуре от 2 до 8 °C.
- В замороженном состоянии пробы можно хранить до 2 месяцев при температуре не выше -20 °C. После хранения пробы необходимо тщательно перемешать перед использованием (с помощью вортекса).
- Перед транспортировкой рекомендуется отделить образцы от разделительного геля, эритроцитов или образовавшихся сгустков. При транспортировке образцов упаковка и маркировка должны соответствовать требованиям национальных и международных нормативных документов, регулирующих транспортировку клинических образцов и инфицированных веществ. Образцы необходимо транспортировать в замороженном состоянии.
- Для проведения одного анализа на содержание коллагена IV типа требуется проба объемом 40 мкл.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

IVD

- Для диагностики *in vitro*.
- Следуйте всем инструкциям на вкладыше внутри упаковки. При несоблюдении любых инструкций на листке-вкладыше точность и надежность результатов анализа нельзя гарантировать.

Меры по обеспечению безопасности

- **ВНИМАНИЕ!** Использование этого продукта подразумевает выполнение определенных действий с образцами биологических материалов человека. Рекомендуется считать все биологические материалы человеческого происхождения потенциальными источниками инфекций и обращаться с ними в соответствии с требованиями раздела 29 Свода федеральных нормативных актов США (CFR), часть 1910.1030 «Occupational exposure to bloodborne pathogens» (Контакт с передающимися с кровью патогенными микроорганизмами на рабочем месте). При обращении с инфицированными или потенциально инфицированными материалами необходимо соблюдать меры по обеспечению 2-го уровня биологической безопасности или другие аналогичные процедуры по обеспечению безопасности.
- Все пробы, биологические реагенты и материалы, используемые для проведения этого анализа, должны считаться потенциально инфицированными материалами. Их утилизация должна осуществляться в соответствии с правилами, установленными в конкретном медицинском учреждении. Утилизация всех материалов должна осуществляться с соблюдением всех надлежащих процедур и мер безопасности в соответствии с действующими нормативными требованиями.
- Этот продукт содержит азид натрия. Утилизация содержимого и всех емкостей должна осуществляться с соблюдением всех соответствующих местных, региональных и национальных нормативных требований.
- Необходимая информация содержится в паспортах безопасности, которые предоставляются по запросу.

Меры предосторожности при работе с реагентами

- Не используйте комплект реагентов по истечении срока годности.
- Компоненты разных комплектов реагентов или реагенты из разных партий не являются взаимозаменяемыми.
- Перед первой загрузкой комплекта реагентов в систему реагенты необходимо перемешать для ресуспендирования магнитных частиц, осевших при транспортировке.
- Инструкции по смешиванию магнитных микрочастиц содержатся в разделе данного листка-вкладыша, посвященном подготовке реагентов.

- Во избежание загрязнения при работе с комплектами реагентов и пробами используйте чистые перчатки.
- Со временем при высыхании жидкости, попавшей на мембрану флакона, образуется налет. Обычно он представляет собой кристаллы солей и не влияет на эффективность анализа.
- Подробное описание мер предосторожности, которые необходимо соблюдать при эксплуатации системы, содержится в информации по обслуживанию, предоставляемой компанией SNIBE.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- До вскрытия упаковки: хранить при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.
- После вскрытия упаковки хранить при температуре от 2 до 8 °С: минимальный срок, в течение которого образец сохраняет стабильность, составляет 4 недели.
- Хранение в аппарате: минимальный срок, в течение которого образец сохраняет стабильность, составляет 4 недели.
- Для максимального сохранения свойств реагентов рекомендуется хранить открытые комплекты реагентов в холодильнике после завершения рабочего дня. Если контроли находятся в пределах диапазона ожидаемых значений, можно использовать комплекты реагентов после вскрытия упаковки или загрузки в систему по истечении установленных сроков.
- Храните реагенты в вертикальном положении, чтобы облегчить ресуспендирование магнитных микрочастиц.
- Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Подготовка реагентов

- Ресуспендирование магнитных микрочастиц выполняется автоматически после успешной загрузки комплекта реагентов, что обеспечивает образование полностью гомогенной взвеси частиц до их использования.
- Для надлежащего выполнения анализов необходимо строго следовать инструкциям, изложенным в руководстве по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI. Каждый параметр исследования определяется с помощью RFID-метки, расположенной на комплекте реагентов. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

РАЗВЕДЕНИЕ

Для этого комплекта реагентов не предусмотрено разведение проб с помощью анализатора.

Пробы, концентрация которых превышает верхний предел диапазона измерений, можно разводить вручную. После разведения вручную умножьте результат на коэффициент разбавления. Для ручного разведения необходимо использовать подходящие разбавители. При необходимости предварительно проконсультируйтесь со специалистами компании SNIBE.

Хук-эффект

При проведении анализа на коллаген IV для образцов, содержащих коллаген IV в концентрации до 20000 нг/мл, хук-эффект не наблюдался.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Для получения достоверных результатов анализа должны проводиться квалифицированными специалистами в точном соответствии с инструкциями.
- Заражение бактериями или термоинактивация проб может повлиять на результаты анализов.
- Результаты анализа, находящиеся в пределах диапазона ожидаемых значений, не исключают вероятности наличия заболевания, поэтому их следует интерпретировать с учетом результатов других диагностических процедур.
- Результаты анализов выражаются в количественном виде. Диагноз не должен быть основан на результате одного анализа — решение должно выноситься врачом с учетом всех имеющихся медицинских (клинических) данных.
- При принятии решений относительно лечения следует учитывать все обстоятельства конкретной ситуации.
- Анализ проб пациентов, содержащих человеческие антимышинные антитела (НАМА), может давать ложно повышенные или ложно пониженные результаты. Несмотря на добавление веществ, нейтрализующих человеческие антимышинные антитела (НАМА), очень высокая концентрация этих антител в сыворотке крови в некоторых случаях может повлиять на результаты анализов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вычисление результатов

Анализатор автоматически рассчитывает значение концентрации коллагена IV в каждой пробе с помощью двухточечной основной калибровочной кривой, которая строится в процессе калибровки. Результаты выражаются в нг/мл. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Интерпретация результатов

Диапазон ожидаемых значений для анализа на CIV был получен путем исследования образцов, взятых у 117 практически здоровых жителей Китая, и включает следующее ожидаемое значение:

<30 нг/мл (95-й перцентиль).

Различия между результатами, полученными в разных лабораториях, могут быть обусловлены различными характеристиками пациентов и используемыми методами анализа. Каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон ожидаемых значений.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прецизионность

Прецизионность анализа коллагена IV определялась в соответствии с процедурой, описанной в протоколе EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Три пула образцов сыворотки крови человека и один контрольный материал, содержащие аналит в разной концентрации, исследовались в двух параллельных независимых анализах ежедневно в течение 20 дней. Результаты в обобщенном виде представлены в таблице ниже.

Проба	Среднее значение (нг/мл) (N = 80)	В пределах серии		Между сериями		Всего	
		Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)
Пул образцов сыворотки крови 1	30,933	1,342	4,34	2,136	6,91	2,522	8,15
Пул образцов сыворотки крови 2	154,497	4,831	3,13	6,825	4,42	8,362	5,41
Пул образцов сыворотки крови 3	619,374	13,242	2,14	11,376	1,84	17,457	2,82
Контроль	256,040	10,942	4,27	4,097	1,60	11,684	4,56

Предел холостой пробы (LoB)

Предел обнаружения (LoD) для анализа коллагена IV составляет 5,0 нг/мл.

Предел обнаружения (LoD)

Предел обнаружения (LoD) для анализа коллагена IV составляет 8,0 нг/мл.

Диапазон измерения

От 5,0 до 2000 нг/мл (определяется пределом холостой пробы и верхним пределом основной кривой). Значения ниже предела холостой пробы определяются как <5,0 нг/мл. Значения, превышающие верхний предел диапазона измерений, определяются как >2000 нг/мл.

Линейность

Линейный диапазон измерения для этого анализа составляет от 8,0 до 2000 нг/мл на основании исследования, выполненного в соответствии с протоколом EP6-A Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Девять проб с одинаковым распределением концентрации были получены путем смешивания образца сыворотки, содержащего коллаген IV в концентрации 2200 нг/мл с образцом сыворотки, не содержащем коллаген IV (0,0 нг/мл). Среднее извлечение образцов составляло от 90 до 110 %.

Сравнение методов

В общей сложности 100 клинических образцов в диапазоне от 5,94 до 1989,65 нг/мл были протестированы с использованием коллагена IV (y) и имеющегося на рынке иммуноанализа (x). Данные, полученные с помощью построенных линейных регрессий, можно представить в виде следующего уравнения: $y = 1,036x - 5,812$, $r^2 = 0,996$.

Аналитическая специфичность

Значение специфичности анализа было получено путем добавления ламинина (4000 нг/мл) в две пробы сыворотки крови в указанной концентрации. Не было выявлено интерференции.

Эндогенная интерференция

Наличие перечисленных ниже веществ в концентрации, не превышающей указанных значений, не влияет на результаты данного анализа:

- Билирубин 6 мг/дл
- Гемоглобин 16 мг/дл
- Триглицериды 1250 мг/дл

ЛИТЕРАТУРА

1. Kühn, K. (1995). Basement membrane (type IV) collagen. *Matrix Biology*, 14(6), 439-445.
2. Maynes, R. (Ed.). (2012). *Structure and function of collagen types*. Elsevier.
3. Hudson, B. G., Tryggvason, K., Sundaramoorthy, M., & Neilson, E. G. (2003). Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen. *New England Journal of Medicine*, 348(25), 2543-2556.
4. Rosenberg, W. M., Voelker, M., Thiel, R., Becka, M., Burt, A., Schuppan, D., ... & Group, E. L. F. (2004). Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*, 127(6), 1704-1713.
5. Abreu-Velez, A. M., & Howard, M. S. (2012). Collagen IV in normal skin and in pathological processes. *North American journal of medical sciences*, 4(1), 1.
6. Dronavalli, S., Duka, I., & Bakris, G. L. (2008). The pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nature Reviews. Endocrinology*, 4(8), 444.
7. Kalluri, R. (2003). Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nature reviews. Cancer*, 3(6), 422.
8. Tanjore, H., & Kalluri, R. (2006). The role of type IV collagen and basement membranes in cancer progression and metastasis. *The American journal of pathology*, 168(3), 715.
9. Mazouni, C., Arun, B., Andre, F., Ayers, M., Krishnamurthy, S., Wang, B., ... & Pusztai, L. (2008). Collagen IV levels are elevated in the serum of patients with primary breast cancer compared to healthy volunteers. *British journal of cancer*, 99(1), 68.
10. Mackay, A. R., Corbitt, R. H., Hartzler, J. L., & Thorgerisson, U. P. (1990). Basement membrane type IV collagen degradation: evidence for the involvement of a proteolytic cascade independent of metalloproteinases. *Cancer research*, 50(18), 5997-6001.
11. Liotta, L. A., Tryggvason, K., Garbisa, S., Hart, I., Foltz, C. M., & Shafie, S. (1980). Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature*, 284(5751), 67-68.

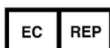


Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.16, Jinhui Road, Pingshan New District, Shenzhen, 518122, P.R. China (KHP)

Тел.: 0086-755-21536601

Факс: 0086-755-28292740



Lotus Global Co., Ltd.

1 Four Seasons Terrace, West Drayton, Middlesex London, UB7 9GG, United Kingdom

Тел.: 0044-20-75868010

Факс: 0044-20-79006187

РАСШИФРОВКА СИМВОЛОВ

	См. инструкцию по использованию		Производитель
	Допустимый температурный диапазон (температура хранения — от 2 до 8 °C)		Срок годности
	Содержимого достаточно для		Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей
	Этой стороной вверх		Официальный представитель в Европейском сообществе
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Состав комплекта
	Номер по каталогу		Код партии