УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
здравоохранения Республики
Беларусь
_____ Б.Н.Андросюк
«_04_» _____ 20_20_ г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
набора реагентов
для определения эстрадиола в сыворотке и плазме крови человека
методом иммуноферментного анализа
СтероидИФА-эстрадиол
ТУ BY 101431475.096 – 2020
Комплект 1, Комплект 2

СОГЛАСОВАНО
Заместитель директора
РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»
_____ А.В.Гринько
«_02_» _____ 2020г.

СОГЛАСОВАНО
Главный врач
УЗ «10-я городская клиническая больница» г.Минска
_____ В.И.Исачкин
_____ 2020 г.

СОГЛАСОВАНО
Главный врач
УЗ «Минский клинический консультативно-диагностический центр»
_____ Н.М.Шредко
«_28_» _____ 2020г.

СОГЛАСОВАНО
Главный врач
ГУ «Республиканский центр медицинской реабилитации и бальнеолечения»
_____ Н.В.Карлович
«_05_» _____ 2020 г.

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
СП ООО «ФармЛэнд»
_____ Н.Т.Благовещенский
«_30_» _____ 2020 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1.НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1. Набор реагентов «СтероидИФА-эстрадиол» (далее набор) предназначен для количественного определения эстрадиола в сыворотке и плазме крови человека (с цитратом натрия, гепарином или этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Эстрадиол – половой С-18-стероидный гормон с молекулярной массой 272,4 Да. Эстрадиол является наиболее активным эндогенным эстрогеном. Он продуцируется в женском организме в основном яичниками и плацентой, а в мужском, в меньших количествах, корой надпочечников и семенниками.

Повышение уровня эстрадиола в крови наблюдается при феминизации у детей, опухолях гонад и коры надпочечников, гинекомастии, циррозе печени, гипертиреозе.

1.3. Функциональное назначение набора - определение уровня эстрадиола в сыворотке и плазме крови человека. Количественное определение уровня эстрадиола в плазме и крови служит как вспомогательное средство в диагностике, при оценке функционального состояния яичников, при выявлении причин нарушения менструального цикла, при бесплодии, недостаточности функции половых желез, при подозрении на эстрогенпродуцирующие опухоли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. Принцип работы

В наборе использован вариант конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа. При одновременном добавлении в лунки исследуемого образца и конъюгата эстрадиол-пероксидаза, во время инкубации устанавливается равновесие между конъюгатом и эндогенным эстрадиолом сыворотки или плазмы крови в процессе связывания с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок.

Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой. Количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально количеству эстрадиола в исследуемом образце (Рисунок 1).

Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски обратно пропорциональна концентрации эстрадиола в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация эстрадиола в исследуемых образцах.

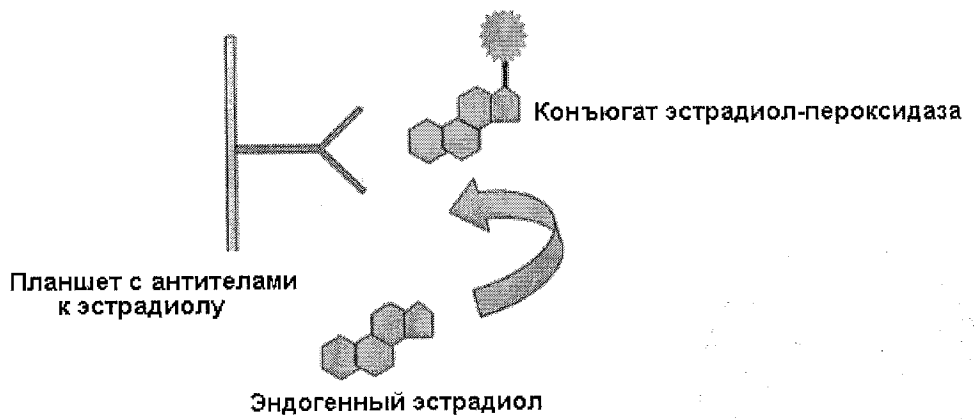


Рисунок 1. Схема анализа

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2.1. Состав и комплектации набора

Набор выпускается в двух комплектациях (таблица 1):

Комплек 1: на 96 определений при проведении анализа вручную в дубликатах 40 неизвестных проб или в монопликатах 88 неизвестных проб [1] при использовании 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора ТМБ при использовании всех стрипов одновременно.

Комплект 2: на 96 определений при проведении анализа на автоматическом ИФА-анализаторе [2] в монопликатах 88 неизвестных проб, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора ТМБ при использовании всех стрипов одновременно.

Обратите внимание: при каждой постановке анализа обязательно нужно определять оптические плотности (ОП) калибровочных проб и ОП раствора ТМБ, а также концентрацию контрольной сыворотки (КС) в соответствии со схемой маркировки лунок.

***Примечание**: в случае дробного применения набор может быть использован только в течение шести месяцев после вскрытия компонентов набора.*

- комплект из двенадцати 8-луночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антителами к эстрадиолу, маркирован «Стрипы с антителами к эстрадиолу» — 1 упаковка;
- калибровочные пробы (КП) на основе водно-солевого раствора, содержащие известные количества эстрадиола; точные значения концентраций эстрадиола (в диапазоне 0-2000 пг/мл) в КП указаны на этикетках флаконов и/или в паспорте набора реагентов – 6 или 8 флаконов (по 0,5 мл и 1,0 мл) в зависимости от варианта комплекта;
- контрольная сыворотка на основе водно-солевого раствора, с известным содержанием эстрадиола, маркирована «Контрольная сыворотка» — 1 или 2 флакона (по 0,5 мл) в зависимости от варианта комплекта;

***Примечание:** дополнительные флаконы калибровочных проб №3, №4 и контрольной сыворотки предназначены для рекалибрации по референсной калибровочной кривой при постановке на автоматическом ИФА-анализаторе. За более подробной информацией обращайтесь к инструкции к автоматическому ИФА-анализатору.*

- конъюгат эстрадиол-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е» — 2 или 3 флакона (по 11 мл) в зависимости от варианта комплекта;
- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Р (20Х)» —2 флакона (по 14 мл) или 1 флакон (50 мл) в зависимости от варианта комплекта;
- раствор тетраметилбензидина, содержащий тетраметилбензидин, перекись водорода и стабилизаторы, маркирован «Раствор ТМБ» — 1 или 2 флакона (по 14 мл) в зависимости от варианта комплекта;
- стоп-реагент, 3,59% раствор соляной кислоты, маркирован «Стоп-реагент» — 1 или 2 флакона (по 14 мл) в зависимости от варианта комплекта;

---

[1] При своевременной поверке измерительного оборудования (пипеток полуавтоматических и спектрофотометра вертикального сканирования), что позволяет свести к минимуму негативное влияние на результат неисправного оборудования

[2] Допускается постановка анализа на различных автоматических ИФА-анализаторах открытого типа, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора (СП ООО «Ф[illegible] тел./факс: +375-17-3733190).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- одноразовый наконечник для многоканальных пипеток – 16 шт. (только для комплекта 1);
- одноразовая ванночка для реагентов– 2 шт. (только для комплекта 1);
- пакет закрывающийся полиэтиленовый (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена, либо в пакет из алюминиевой фольги) – 1 шт.
- -концентрированный раствор Триала – 3 фл. по 20 мл (только для комплекта 2);
- -многоцелевые полипропиленовые пробирки 12х75мм вместимостью 5 мл – 100 шт. (только для комплекта 2).

Таблица 1

Название компонента	Комплект 1	Комплект 2
1.Стрипы	1 шт.	1 шт.
2.Калибровочная проба № 1	1 фл. - 1,0 мл	1 фл. - 1,0 мл
3.Калибровочная проба № 2	1 фл. по 0,5 мл	1 фл. по 0,5 мл
4.Калибровочная проба № 3	1 фл. по 0,5 мл	2 фл. по 0,5 мл
5.Калибровочная проба № 4	1 фл. по 0,5 мл	2 фл. по 0,5 мл
6.Калибровочная проба № 5	1 фл. по 0,5 мл	1 фл. по 0,5 мл
7.Калибровочная проба № 6	1 фл. по 0,5 мл	1 фл. по 0,5 мл
8.Контрольная сыворотка	1 фл. - 0,5 мл	2 фл. по 0,5 мл
9.Конъюгат Е	2 фл. по 11 мл	3 фл. по 11 мл
10.Буфер Р (20Х)	2 фл. по 14 мл	1 фл. – 50 мл
11.Раствор ТМБ	1 фл. – 14 мл	2 фл. по 14 мл
12.Стоп-реагент	1 фл. – 14 мл	2 фл. по 14 мл
13.Одноразовый наконечник для многоканальных пипеток	16 шт.	-
14.Одноразовая ванночка для реагентов	2 шт.	-
15.Триал	-	3 фл. по 20 мл
16.Пробирки	-	100 шт.
17.Пакет закрывающийся полиэтиленовый	1 шт.	1 шт.

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Повышение концентрации гемоглобина (до 5 мг/мл), билирубина (до 0,1 мг/мл), сывороточного альбумина (до 50 мг/мл) или триглицеридов (до 15 мг/мл) в некоторых пробах не оказывает негативного воздействия на

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

результаты анализа, но не следует использовать гемолизированные или мутные образцы.

3.2. Коэффициент вариации результатов определения эстрадиола в одном и том же образце сыворотки и плазмы крови человека с использованием набора не превышает 8%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации эстрадиола в образцах сыворотки и плазмы крови при разведении их калибровочной пробой №1 имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №2-№6 и составляет 90–110%.

3.4. Точность. Определяется в тесте на «открытие» — проверке соответствия значения определяемой концентрации эстрадиола расчетной величине, полученной путем смешивания равных объемов контрольных растворов с установленной концентрацией. Процент открытия в наборе составляет 90–110%.

3.5. Аналитическая чувствительность. Диапазон определяемой концентрации: (8,6 – 2000) пг/мл.

3.6. Клиническая проверка. Содержание эстрадиола измеряли в 101 образце сыворотки и плазмы крови, взятой с 9 до 11 часов у здоровых лиц разного пола и возраста.

Диапазон ожидаемых значений у здоровых лиц представлен в Таблице 2.

Таблица 2

Женщины	Фолликулиновая фаза	30 – 100 пг/мл
	Овуляция	130 – 350 пг/мл
	Лютеиновая фаза	50 – 180 пг/мл
	Менопауза	< 60 пг/мл
Дети		< 40 пг/мл
Мужчины		< 60 пг/мл

Диапазон ожидаемых значений зависит от многих факторов: специфичности метода, особенностей исследуемой популяции, точности метода в конкретной лаборатории. По этой причине каждой лаборатории рекомендуется использовать предоставленные изготовителем значения только до тех пор, пока специалистами лаборатории не будут определены диапазоны ожидаемых значений, характерных для конкретной популяции в месте расположения лаборатории.

Примечание: *в наборе значения концентраций калибровочных проб выражены в пг/мл. Для пересчета концентраций эстрадиола в пмоль/л необходимо значение концентрации в пг/мл умножить на 3,67.*

3.7. Ограничение теста. Пробы пациентов, принимающих накануне сдачи крови лекарственные средства, употребляющих соленую, жирную и острую пищу, употребляющих алкоголь, подверженных стрессам и физическому перенапряжению, для анализа с помощью набора использовать недопустимо.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

4.1. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. Однако работа со всеми исследуемыми образцами сыворотки (плазмы) крови человека, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции, с отработанными растворами и жидкостями,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

различным оборудованием, которое может быть загрязнено в процессе анализа, требует определенных мер безопасности при использовании набора:

- работу необходимо проводить в специально оборудованном помещении;
- работать необходимо с применением средств индивидуальной защиты и с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2], [4], [5], [7].

4.2. Стоп-реагент представляет собой 3,59% раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

4.4. Все лица, работающие в лаборатории с наборами, должны проходить обязательный медицинский осмотр в соответствии с требованиями [3].

4.5. Утилизация медицинских отходов и/или неиспользованных наборов с истекшим сроком годности должна производиться в соответствии с требованиями [6].

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн 450 нм и 620-630 нм[3];
- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание с амплитудой колебаний (3-4) мм и частотой (4-8) Гц при температуре 37° С;
- автоматическое промывочное устройство (вошер) для иммунологических планшетов[4];
- пробирки полипропиленовые объемом 1,5 мл одноразовые (фирма SARSTEDT, кат. номер 72.690.001, или аналогичные им по качеству и предназначению);
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными одноразовыми наконечниками[4] с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 20–200 мкл; на 100–1000 мкл; на 1000–5000 мкл; аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3 %);
- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными одноразовыми наконечниками[4], позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 50-500 мл;
- стакан стеклянный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная или очищенная деионизованная;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- дезинфицирующий раствор на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов;
- контейнер для дезинфекции;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой;
- холодильник бытовой;

---

[3] Допускается использование автоматических анализаторов для ИФА открытого типа, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора в СП ООО «Фармлэнд».

[4] Повторное использование наконечников не допускается. При внесении каждого образца необходимо использовать новый наконечник

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- образцы сывороток крови человека (с повышенным, нормальным и пониженным содержанием эстрадиола) или аттестованные контрольные сыворотки с низкой, средней и высокой концентрацией эстрадиола (далее - ОС/АКС) или Внутренняя контрольная панель (ВКП-эстрадиол-линейность/открытие) (ООО «Компания Алкор Био», РФ) (далее - ВКП);
- калибровочная проба №1 – 1 флакон для комплектации №1 и 2 флакона для комплектации №2;
- контрольная сыворотка – 1 флакон для комплектации №1.

Дополнительно для проведения анализа в термостате:

- термостат, поддерживающий температуру +37°С.

Дополнительно для проведения анализа на автоматическом ИФА-анализаторе

- автоматический ИФА-анализатор[3];
- многоцелевые полипропиленовые пробирки 12х75 вместимостью 5 мл;
- концентрированный водный раствор Триала, 5000-кратный концентрат, маркирован «Триал».

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. Забор крови для получения плазмы осуществляют в пробирку, содержащую антикоагулянт (цитрат натрия, гепарин или ЭДТА). После центрифугирования сыворотку или плазму переносят в отдельную пробирку. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека, содержащей антикоагулянты (цитрат натрия, гепарин или ЭДТА), подтверждена на 50 образцах с разными количествами эстрадиола каждого вида антикоагулянта в анализе с помощью набора.

6.2. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную или мутную сыворотку или плазму, а также образцы сыворотки или плазмы, содержащие азид натрия.

6.3. Образцы сыворотки или плазмы крови разрешается хранить при температуре от +2 до +8°С не более 3 суток; при необходимости более длительного хранения рекомендуется аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре –20°С и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

6.4. Разведение исследуемых образцов сыворотки или плазмы крови. Если по предварительным данным или по результатам анализа значения концентрации эстрадиола выше КП №6, образцы следует развести КП №1.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов

7.1.1. Стрипы. Перед вскрытием пакет со стрипами необходимо выдержать при комнатной температуре (+18…25˚С) (далее КТ) не менее 30 минут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

7.1.2. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

7.1.3. Конъюгат готов к использованию.

7.1.4. Промывочный раствор. Необходимое количество буфера Р (20Х) развести дистиллированной или очищенной деионизованной водой в 20 раз.

Например: 14 мл буфера Р (20Х) + 266 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.5. Раствор ТМБ готов к использованию.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.1.6. Стоп-реагент готов к использованию.

7.1.7. Рабочий раствор Триала. Необходимое количество концентрированного раствора Триала развести в 5000 раз дистилированной или очищенной водой. Например: 1 мл Триала + 4999 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.8. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до КТ.

7.2. Постановка анализа

7.2.1. Составить схему внесения образцов (см. Таблицу 3). Лунки промаркировать следующим образом:

A1 – D1 – № 1 – для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ (B_T);

E1 – H1 – № 2 – для измерения величины B_1;

A2 – D2 – № 3 – для измерения величины B_2;

E2 – H2 – № 4 – для измерения величины B_3;

A3 – D3 – № 5 – для измерения величины B_4;

E3 – H3 – № 6 – для измерения величины B_5;

A4 – D4 – № 7 – для измерения величины B_6.

A6 – H6 – № 8 – для определения чувствительности (Ч);

A7 – H7 – № 9 – для определения линейности разведения ОС/АКС 1 или ВКП 1 ($Л_1$);

A8 – H8 – № 10 – для определения линейности разведения ОС/АКС 2 или ВКП 2 ($Л_2$);

A9 – H9 – № 11 – для определения линейности разведения ОС/АКС 3 или ВКП 3 ($Л_3$);

A10 – H10 – № 12 – для определения линейности разведения ОС/АКС 4 или ВКП 4 ($Л_4$);

A11 – H11 – № 13 – для определения «открытия» (ОТ);

E4 – H4, A5 – H5 – № 14 – для определения концентрации эстрадиола в контрольной сыворотке и КВ.

Таблица 3

СХЕМА ВНЕСЕНИЯ ОБРАЗЦОВ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Вт	B_2	B_4	B_6	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–
B	Вт	B_2	B_4	B_6	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–
C	Вт	B_2	B_4	B_6	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–
D	Вт	B_2	B_4	B_6	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–
E	B_1	B_3	B_5	КВ	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–
F	B_1	B_3	B_5	КВ	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–
G	B_1	B_3	B_5	КВ	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–
H	B_1	B_3	B_5	КВ	КВ	Ч	$Л_1$	$Л_2$	$Л_3$	$Л_4$	ОТ	–

7.2.2. Подготовка образцов для тестов на «линейность» и «открытие»

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для комплектации №1: 5 пробирок, объемом 1,5 мл, промаркировать $Л_1$; $Л_2$; $Л_3$; $Л_4$ и ОТ.

Для комплектации №2: 6 пробирок, объемом 5 мл, промаркировать $Л_1$; $Л_2$; $Л_3$; $Л_4$,ОТ и Ч. В пробирку, маркированную Ч, перенести 0,8 мл КП №1.

В пробирку, обозначенную $Л_1$, внести 0,3 мл ОС/АКС 1 или ВКП 1 и 0,3 мл калибровочной пробы №1.

В пробирку, обозначенную $Л_2$, внести 0,3 мл ОС/АКС 2 или ВКП 2 и 0,3 мл калибровочной пробы №1.

В пробирку, обозначенную $Л_3$, внести 0,3 мл ОС/АКС 3 или ВКП 3 и 0,3 мл калибровочной пробы №1.

В пробирку, обозначенную $Л_4$, внести 0,3 мл ОС/АКС 4 или ВКП 4 и 0,3 мл калибровочной пробы №1.

В пробирку, обозначенную ОТ, внести 0,3 мл ОС/АКС 5 или ВКП 5 и 0,3 мл контрольной сыворотки.

Содержимое всех пробирок тщательно перемешать.

7.2.3. Проведение иммуноферментного анализа для комплекта 1.

7.2.3.1. Отобрать из каждого флакона с калибровочными пробами по 0,025 мл раствора и внести в соответствующие лунки: № 2 и № 8 – КП №1; № 3 – КП №2; № 4 – КП №3; № 5 – КП №4; № 6 – КП №5; № 7 – КП №6. Из пробирок, обозначенных $Л_1$, $Л_2$, $Л_3$ и $Л_4$, перенести в лунки №№ 9, 10, 11 и 12, соответственно, по 0,025 мл растворов. Из пробирки, обозначенной ОТ, перенести в лунки № 13 по 0,025 мл раствора. Из флакона с контрольной сывороткой отобрать и внести в каждую из 12 лунок, маркированных № 14, по 0,025 мл раствора.

Внести во все лунки, кроме лунок A1 – D1, по 0,2 мл конъюгата .

7.2.3.2. Инкубировать стрипы.

Возможны 2 варианта инкубации:

- в течение 60 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере с амплитудой колебаний (3-4) мм и частотой (4-8) Гц при температуре 37° С;

- в течение 120 минут без шейкирования в термостате, при температуре плюс 37°С, предварительно встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 1-2 минут при комнатной температуре.

7.2.3.3. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов и промыть лунки 3 раза. При каждой промывке во все лунки добавить по 0,30 мл промывочного раствора, встряхнуть рамку аккуратным постукиванием или на шейкере в течение 5–10 секунд с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства. В этом случае увеличить количество циклов промывки до 5 раз.

7.2.3.4. Во все лунки немедленно внести по 0,10 мл раствора ТМБ. Инкубировать стрипы в течение 30 минут в темноте без шейкирования при комнатной температуре (от +18° до +25°С).

7.2.3.5. Добавить во все лунки, с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 0,10 мл стоп-реагента для остановки ферментной реакции. Встряхнуть рамку со стрипами аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 1–2 минут при комнатной температуре.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.2.3.6. Измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм. В случае если значение оптической плотности превышает предел линейности спектрофотометра, считывание результатов проводят при 405 нм. В случае невозможности своевременно измерить оптическую плотность растворов в лунках на фотометре, рамку со стрипами можно хранить при комнатной температуре не более 20 минут.

7.2.4. Проведение иммуноферментного анализа для комплекта 2.

7.2.4.1. Приготовление рабочего раствора Триала.

Для приготовления рабочего раствора Триала необходимое количество концентрированного раствора Триала развести в 5000 раз дистиллированной или очищенной деионизованной водой. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.2.4.2.Подготовить автоматический ИФА-анализатор для постановки анализа.

7.2.4.3.Поместить подготовленные реагенты на борт автоматического ИФА-анализатора.

Программа анализатора для набора «СтероидИФА-эстрадиол», сохраненная в памяти прибора, позволяет автоматически выполнить все стадии анализа без вмешательства пользователя.

Встроенное программное обеспечение автоматического ИФА-анализатора позволяет получить протокол со значениями оптических плотностей во всех лунках согласно Таблице 4.

7.3. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.3.1. После выполнения постановки измерить на фотометре вертикального сканирования ОП в лунках при длине волны 450 нм, рекомендуется использование референсного фильтра 620-630 нм.

При регистрации результатов **необходимо вычитать** ОП, полученную на референсном фильтре, из ОП, полученной при 450 нм, для каждой лунки.

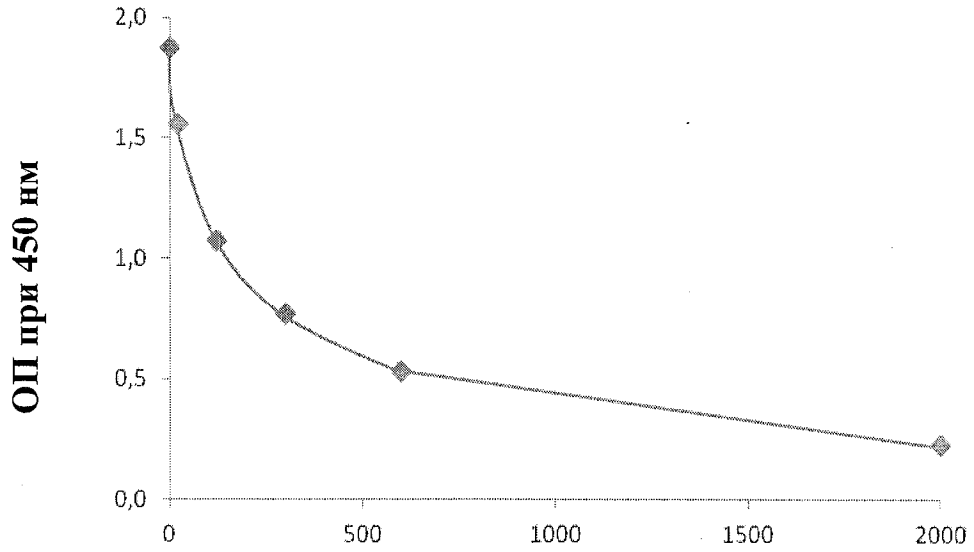
При регистрации результатов **необходимо вычитать** среднюю величину ОП ТМБ, полученной в лунках А1 и А2, из значений ОП всех остальных лунок.

Примечание: среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках А1 и А2 не должно превышать 0,09 ед.ОП

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Построить калибровочный график зависимости оптических плотностей (ОП, ед. опт. плотн.) от концентрации эстрадиола (пг/мл) в калибровочных пробах (Рисунок 2). Внешний вид графиков зависит от способа преобразования осей.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Концентрация эстрадиола, пг/мл

Рисунок 2. Типичный калибровочный график

Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!

Примечания: *Для построения калибровочного графика рекомендуется использовать Программное обеспечение «ИФА Мастер», выбирая для аппроксимации зависимости функцию 4pL.*

8.2. Определить содержание эстрадиола в пробах по калибровочному графику.

8.3. Для образцов со значениями оптической плотности выше оптической плотности нулевого калибратора (B_1) принимать значение концентрации «ниже 0,86 пг/мл».

8.4. Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации эстрадиола, превышающих номинал КП №6 не допускается. Для точного определения концентрации эстрадиола в таких образцах необходимо выполнить их разведение в соответствии с п.6.4.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя в чистом, защищенном от влаги и света помещении при температуре +2...+8°С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°С не более 5 суток.

Запрещается замораживать компоненты набора.

9.2. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

9.3. Срок годности набора – 24 месяца от даты приемки СКК изготовителя.

9.4. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

– стрипы поместить в пакет с этикеткой (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена, либо в пакет из алюминиевой фольги), который затем вложить в пакет закрывающийся полиэтиленовый и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре от +2 до +8 °С в течение всего срока годности;

– калибровочные пробы,контрольную сыворотку, коньюгат, раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре от +2 до +8 °С не более шести месяцев;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок и концентрированный раствор Триала, стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре от +2 до +8°С в течение всего срока годности;

– водно-солевой раствор для промывки лунок, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре (от +18 до +25 °С) не более 5 суток или при температуре от +2 до +8°С не более 4 недель;

– раствор Триала, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре (от +18 до +25 °С) не более 5 суток.

Приложение А
(справочное)

Библиография

[1] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 г. № 351 «О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД».

[2] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 08.07.2016 г. № 85.
Санитарные нормы и правила «Требования к условиям труда работающих и содержанию производственных объектов».

[3] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29.07.2019 г. № 74.
Инструкции о порядке проведения обязательных и внеочередных медицинских осмотров работающих.

[4] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.10. 2017 г. № 92 с дополнением, утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 22 декабря 2017 г. № 112, с дополнениями, утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 5 января 2018 г. № 4.
«Требования к контролю воздуха рабочей зоны», Гигиенический норматив «Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны», Гигиенический норматив «Ориентировочные безопасные уровни воздействия вредных веществ в воздухе рабочей зоны», Гигиенический норматив «Предельно допустимые уровни загрязнения кожных покровов вредными веществами».

[5] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 2 от 06.01.2017 г.
«Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки».

[6] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 14 от 07.02.2018 г.
Санитарные нормы и правила «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

[7] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.02.2013 № 11.
Санитарные нормы, правила и гигиенические нормативы «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения вирусных гепатитов».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Инструкцию составили
сотрудники СП ООО «Фармлэнд»:

Заместитель генерального директора
по научной и инновационной работе В.В.Сенчук

Начальник отдела изделий
медицинского назнчения Ю.В.Сенчук

Ведущий специалист отдела
изделий медицинского назначения В.М.Снегирь

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru