



REF

ЕН-151



96

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«ДС-ИФА-Стероид-Кортизол»
Тест-система иммуноферментная для количественного
определения кортизола

Содержание

I. Назначение.....	3
II. Принцип теста.....	3
III. Состав набора «ДС-ИФА-Стероид-Кортизол».....	4
IV. Аналитические и диагностические характеристики набора.....	5
V. Меры предосторожности.....	6
VI. Инструкции по безопасности.....	7
VII. Утилизация и уничтожение.....	8
VIII. Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов.....	8
IX. Отбор и подготовка образцов.....	8
X. Подготовка реагентов.....	9
XI. Проведение анализа.....	9
XII. Учет результатов.....	10
XIII. Ограничения теста.....	11
XIV. Срок годности. Условия хранения и транспортирования.....	11
XV. Объяснение символов.....	12
XVI. Список литературы.....	12
Приложение 1.....	13
Приложение 2.....	14
Приложение 3.....	15

I. НАЗНАЧЕНИЕ

1. Набор реагентов «ДС-ИФА-Стероид-Кортизол» предназначен для количественного определения содержания кортизола в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

2. Кортизол – стероидный гормон с молекулярной массой 362 Да, является основным гормоном коры надпочечников. В крови кортизол циркулирует в основном в связанной с транскортином форме. Секреция кортизола подчиняется суточному ритму – максимальная концентрация кортизола в 6-9 ч утра, минимальная – в 22-24 ч. Количественное определение уровня кортизола в крови имеет диагностическое значение при оценке функционирования системы гипоталамус – гипофиз – кора надпочечников. Определение уровня секреции кортизола является важным при диагностике болезней Аддисона, Иценко-Кушинга.

3. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 39-40 неизвестных проб, одной-двух проб контрольных сывороток, шести стандартных калибровочных проб и одной пробы для определения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора при одновременном использовании всех стрипов планшета (всего 96 определений).

В случае дробного применения набора необходимо обязательное использование всех калибровочных проб при каждой постановке.

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод определения основан на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением моноклональных антител. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца и конъюгата кортизол-пероксидаза, во время инкубации происходит конкурентное связывание сывороточного кортизола и кортизола, конъюгированного с пероксидазой, с моноклональными антителами к кортизолу, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок планшета.

При удалении содержимого из лунок происходит разделение свободного и связанного антителами конъюгата кортизол-пероксидаза, причем количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально концентрации кортизола в анализируемом образце сыворотки крови.

Во время инкубации с ТМБ-Субстратным раствором происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связанного антителами конъюгата кортизол-пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация кортизола в исследуемых образцах.

III. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-Стероид-Кортизол»

Таблица 1

Характеристика реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент – планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к кортизолу.	1 шт
Конъюгат – кортизол, меченный пероксидазой хрена. Прозрачная или опалесцирующая жидкость розового цвета. В качестве консервантов содержит: 0,1% ProClin 300, 0,004% гентамицина сульфат.	1 флакон 12,0 мл
Калибратор 0, Калибратор 1, Калибратор 2, Калибратор 3, Калибратор 4, Калибратор 5 – калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества кортизола. Прозрачные или опалесцирующие жидкости светло-желтого цвета. Значения концентраций кортизола в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов и в аналитическом паспорте качества. В качестве консерванта содержат 0,1% ProClin 300.	6 флаконов по 0,5 мл
КС1 – контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием кортизола. Прозрачная или опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета. В качестве консерванта содержит 0,1% ProClin 300.	1 флакон 0,5 мл
КС2* – контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием кортизола. Прозрачная или опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета. В качестве консерванта содержит 0,1% ProClin 300.	1 флакон 0,5 мл
ПР (концентрат ×25) – промывочный раствор, концентрат. Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 50,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор – прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 12,0 мл или 1 флакон 14,0 мл
Стоп-реагент/0,2М – серная кислота в концентрации 0,2 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл

* КС2 – контрольная сыворотка с известным содержанием кортизола поставляется по заявке потребителя.

Набор комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами. Имеется цветовая кодировка реагентов, а также маркировка посредством штрих-кодов. Возможна комплектация увеличенными объемами реагентов или увеличенным количеством реагентов в стандартных дозировках.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению и бланк для построения калибровочной кривой.

Дополнительно набор может быть укомплектован	Крышка к полистироловым 96-луночным планшетами или защитная пленка для ИФА планшетов	1 шт
		2 шт
	Одноразовые наконечники	16 шт
	Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт
	Пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или пакет полиэтиленовый с замком Zip-Lock	1 шт

IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация кортизола в сыворотке крови человека не превышает 5 нмоль/л.

2. Специфичность. Величины перекрестных реакций с родственными соединениями приведены в таблице 2.

Таблица 2

Кросс-реагент	Кросс-реактивность, %
кортизол	100
кортизон	0,47
кортикостерон	10,7
тестостерон	0,27
эстрадиол	<0,001
эстриол	<0,001
прогестерон	4,6
андростендион	0,1

3. Коэффициент вариации результатов определения кортизола в одном и том же образце сыворотки крови с использованием набора не превышает 8%.

4. Линейность. Зависимость концентрации кортизола имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №1-№5. Значение «линейности» должно находиться в пределах от 90 до 110%.

5. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» кортизола – соответствие измеренной концентрации кортизола предписанной в пробе, полученной смешением равных объемов контрольной сыворотки КС1 и «Калибратора 2». Процент открытия составляет 90-110%.

6. Клиническая проверка. Концентрацию кортизола измеряли в сыворотке крови, взятой у 95 здоровых людей в возрасте от 21 до 40 лет. Средняя концентрация кортизола в сыворотке крови, отобранной с 9 до 12 часов, составила 414 нмоль/л (138-690 нмоль/л). Средняя концентрация кортизола в сыворотке крови, отобранной после 12 часов, составила 207 нмоль/л (69-345 нмоль/л).

Правила перерасчета результатов:

$$\text{нмоль/л} \times 0,362 = \text{нг/мл}; \text{нг/мл} \times 2,76 = \text{нмоль/л}$$

7. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций кортизола, соответствующие нормальным значениям для обследуемого контингента лиц.

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ Министерства здравоохранения РФ № 4Н от 06 июня 2012 г.).

5.2. Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с комнатной температурой (18-25) °С.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
 - неспецифического компонента (ПР(×25)), который взаимозаменяем во всех тест-системах производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
 - стоп-реагента, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора;
 - ТМБ-Субстратного раствора, который взаимозаменяем во всех наборах для исследования гормонов и онкомаркеров производства ООО «НПО «Диагностические системы».
- Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Перед использованием все реагенты набора выдержать при температуре от 18 до 25 °С в течение 30 мин.
- Растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить ферментную реакцию в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на активность конъюгатов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Нельзя использовать одну и ту же ванночку для внесения конъюгата и ТМБ-Субстратного раствора.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной или деионизированной. Посуду для работы с ТМБ-Субстратным раствором (ванночки, флаконы и т.д.) в случае повторного использования необходимо сразу после работы промыть водой дистиллированной или деионизированной, затем 70% раствором этилового спирта и ополоснуть водой дистиллированной или деионизированной.
- Ферментативная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или ТМБ-Субстратного раствора.
- Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.
- Промывка лунок – важный этап проведения анализа: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполняются раствором. Не следует допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.

- Необходимо использовать только валидированные дозаторы и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

VI. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.
- Сыворотки крови человека, используемые при приготовлении калибраторов и контрольных сывороток, не содержат антитела к вирусу гепатита С, антитела к ВИЧ-1,2, антиген вируса гепатита В (HBsAg), р24 ВИЧ-1 и антитела к возбудителю сифилиса.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами и реагентами, необходимо обращаться как с инфекционными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спецодежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы. При распыливании немедленно дезактивировать поверхность 3% раствором хлорамина Б.
- Необходимо избегать контакта ТМБ-Субстратного раствора, стоп-реагента с кожей и слизистыми.
- После проведения ферментативной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы, пробы и реагенты, любые жидкости, содержащие биологические образцы, до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГ/см² (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или другого хлорсодержащего средства. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.



- ^{xi} Некоторые реагенты содержат 0,1% ProClin 300. ProClin 300 0,1% – раздражающее вещество. Может вызвать сенсibilизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

VII. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

При утилизации и уничтожении все реагенты и материалы, являющиеся отходами, должны быть обработаны в соответствии с действующими нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08, МУ 287-113).

VIII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;
- Термостатируемый шейкер, позволяющий производить встряхивание планшета при температуре $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ со скоростью от 500 до 800 об/мин;
- Устройство для промывания планшетов (вошер);
- Дозаторы пипеточные полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5-50 мкл; на 40-200 мкл; на 200-1000 мкл; на 1000-5000 мкл;
- Дозатор пипеточный полуавтоматический восьмиканальный со сменными наконечниками, позволяющий отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- Цилиндры мерные вместимостью 200 мл и 500 мл;
- Стакан стеклянный вместимостью 500 мл;
- Вода дистиллированная или деионизированная;
- Бумага фильтровальная лабораторная;
- Перчатки резиновые или пластиковые.

IX. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. **Недопустимо использование образцов сыворотки крови с добавлением азида натрия или тимеросала в качестве консерванта!** Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Отобранные образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2-8 °C не более 3 суток или при температуре минус 20 °C и ниже не более 3 месяцев (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). **Образцы с бактериальным ростом, выраженным гемолизом и гиперлипидемией анализировать нельзя!** Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин в течение 15 минут при температуре 2-8 °C.

Х. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты, готовые к применению:

- **Иммуносорбент.** Во избежание конденсации влаги внутри лунок необходимо выдержать иммуносорбент при комнатной температуре в закрытом пакете не менее 30 минут! Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество стрипов, вставить стрипы в рамку. Пакет с неиспользованными стрипами тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край фольгированного пакета свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета.
- **Стандартные калибровочные пробы.**
- **Конъюгат.**
- **Контрольные сыворотки.**
- **ТМБ-Субстратный раствор.**
- **Стоп-реагент.**

2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

- **Рабочий промывочный раствор (ПР).** Содержимое флакона с концентратом ($\times 25$) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимое количество концентрата промывочного раствора развести в 25 раз водой дистиллированной или деионизированной (например, к 10 мл концентрата ПР добавить 240 мл воды). Полученный раствор тщательно перемешать. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут при комнатной температуре или 28 сут при температуре от 2 до 8 °С.

3. Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия флаконов, оставшиеся неиспользованными реагенты набора: стандартные калибровочные пробы, контрольные сыворотки, конъюгат, ТМБ-Субстратный раствор хранить во флаконах, плотно закрытых винтовыми крышками, на протяжении 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С. Оставшиеся неиспользованными ПР (концентрат $\times 25$), стоп-реагент хранить во флаконах, плотно закрытых винтовыми крышками, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С. После первого вскрытия пакета иммуносорбент стабилен на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С, при условии соблюдения герметизации.

ХІ. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Примечание: перед использованием все реагенты набора выдержать в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

1. Стандартные калибровочные пробы и контрольные сыворотки вносить по 25 мкл в двух повторах. Рекомендуется оставить 2 лунки для измерения ОП ТМБ-Субстратного раствора. В остальные лунки внести по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови в двух повторах.

Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 10 минут!

2. Во все лунки планшета, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, внести по 100 мкл конъюгата, планшет закрыть крышкой или защитной пленкой.

3. Возможны две процедуры инкубации планшета:

Процедура 1 (термостатируемый шейкер, $(37,0 \pm 0,5)$ °C):

Планшет инкубировать в течение 30 минут на термостатируемом шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин при температуре $(37,0 \pm 0,5)$ °C.

Процедура 2 (комнатная температура):

После внесения в лунки планшета образцов и конъюгата содержимое перемешать аккуратным постукиванием по краям планшета в течение 30 секунд, стрипы закрыть крышкой или защитной пленкой и инкубировать в течение 60 минут при комнатной температуре (18-25) °C.

4. По окончании инкубации содержимое лунок удалить с помощью промывочного устройства в ёмкость для сбора инфицированного материала, планшет промыть 5 раз рабочим ПР, добавляя во все лунки планшета не менее 300 мкл рабочего ПР и удаляя рабочий ПР с помощью промывочного устройства в ёмкость для сбора инфицированного материала. После последнего промывания тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

5. Немедленно внести во все лунки планшета по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора и выдержать при комнатной температуре в темноте:

Процедура 1: 20-30 мин.

Процедура 2: 20-30 мин.

6. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реагента, встряхнуть стрипы на шейкере в течение 5-10 секунд и провести учет результатов. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 мин.

Схема проведения ИФА приведена в Приложении 3.

7. **Спектрофотометрический контроль внесения сывороток и реагентов при постановке тест-системы «ДС-ИФА-Стероид-Кортизол» на автоматических ИФА-анализаторах.** Контроль внесения конъюгата рекомендуется проводить при длинах волн 540 (550) нм, критерий: ОП > 0,500.

ХII. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить на фотометре вертикального сканирования ОП раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм.

Для обсчета результатов также возможно использовать построенный в системе координат “Logit-Log” график зависимости Logit (B/B_0) от логарифма (LN) концентрации кортизола в калибровочных пробах, где B – среднее значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы, B_0 – среднее значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочную пробу 0. Logit (B/B_0) рассчитывается как $\text{LN}((1-B/B_0)/(B/B_0))$.

Определение концентрации кортизола в контрольных сыворотках необходимо для проверки точности и достоверности полученных результатов. В том случае, когда полученное значение концентрации в контрольной сыворотке находится в пределах концентраций, указанных на этикетке флакона с контрольной сывороткой, полученные при анализе исследуемых проб результаты являются достоверными.

XIII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

1. Содержание кортизола в сыворотке может зависеть от времени взятия образца или назначения преднизолона, преднизона и других структурно-связанных кортикостероидов.

2. Заключение о клиническом диагнозе не может быть основано только на результатах данного теста. В диагностических целях результаты должны обязательно использоваться в сочетании с другими данными: симптомами, общей клинической картиной, результатами исследования другими тестами.

XIV. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

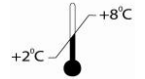
Срок годности набора – 18 месяцев. Срок годности указан на упаковке набора. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Хранение – в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование – при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование и хранение при температуре от 9 до 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя – ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

XV. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)		
	Для диагностики in vitro		Температурные пределы хранения
	Производитель		Срок годности число/месяц/год
	Каталожный номер		Использовать инструкцию по применению
	Количество определений		Содержит раздражающее вещество
	Номер партии (серии)	Code: X.X.XX	Идентификационный код

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования».



– Дата изготовления (YYYY-MM), символ 5.1.3;



– Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD), символ 5.1.4 (взамен символа  EXP.);



– Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;



– Беречь от влаги, символ 5.3.4;



– Внимание, символ 5.4.4;



– Содержит раздражающее вещество (символ исключен);

Code:
X.X.XX

– Идентификационный код (надпись исключена).

XVI. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

См. Приложение 1 к данной инструкции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Peters J.R., et al., Clin Edocrinol. 17:583, 1982.
2. Papanicolaou, D.A. et al J. Clin Endocrinol Metab 87(10):4515-4521.
3. Check, J.H., et al, Falsely elevated steroidal assay levels related to heterophile antibodies against various animal species. Gynecol Obstet Invest 40:139-140, 1995.

Методы математической обработки результатов

При учете результатов с помощью встроенного или внешнего программного обеспечения спектрофотометра рекомендуется использовать следующие методы математической обработки результатов:

Марка спектрофотометра	Рекомендуемые методы математической обработки
Statfax 2100, 3200	Linear regression в координатах Logit-Log
Tecan Sunrise	4 parameter Marquardt
Bio-Rad 680	4 PL-Cook-Wilkenson
Multiscan EX	Не рекомендуется автоматический расчет концентраций на ридере
Multiscan FC	4 parameters logistic

СХЕМА АНАЛИЗА

1	Внести	По 25 мкл калибраторов и контрольных сывороток в двух повторах; По 25 мкл исследуемых сывороток в двух повторах	
2	Внести	По 100 мкл конъюгата во все лунки, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора	
3	Инкубировать	Процедура 1 30 мин, шейкер, (37,0± 0,5) °С	Процедура 2 60 мин, комнатная температура
4	Промыть планшет	5 раз, не менее 300 мкл рабочего промывочного раствора	
5	Внести	По 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора во все лунки	
6	Инкубировать	20-30 мин, в темноте	
7	Внести	По 150 мкл стоп-реагента	
8	Встряхнуть	В течение 5-10 секунд	
9	Учет результатов	450 нм	

нмоль/л x 0,362 = нг/мл

нг/мл x 2,76 = нмоль