# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO НАБОРА РЕАГЕНТОВ С ПРИНАДЛЕЖНОСТЯМИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ **ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА** В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА **(«ГонадотропинИФА-ЛГ»)**

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

**1.1.** Набор реагентов «ГонадотропинИФА-ЛГ» предназначен для количественного определения лютеинизирующего гормона (ЛГ) в сыворотке крови человека.

**1.2.** ЛГ — гликопротеиновый гормон с молекулярной массой около 30 000 Да, состоящий из двух субъединиц — альфа и бета. ЛГ секретируется базофильными клетками передней доли гипофиза.

У мужчин ЛГ стимулирует синтез тестостерона в лейдиговских клетках семенников. У женщин ЛГ, наряду с другими гормонами, участвует в регуляции менструального цикла.

Повышенные уровни ЛГ наблюдаются у пациентов с различными формами гипогонадизма (первичная недоста-

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

точность яичников и семенников, поликистоз яичников, менопауза и пр.), а также при почечной недостаточности и циррозе.

При дисфункциях передней доли гипофиза или гипоталамуса наблюдаются пониженные уровни ЛГ, которые могут являться причиной бесплодия у обоих полов.

Кроме того, количественное определение уровня ЛГ в сыворотке крови имеет диагностическое значение при определении менопаузы, точного времени овуляции и мониторинге эндокринной терапии.



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

# 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

## 2.1. Принцип действия

В наборе «ГонадотропинИФА-ЛГ» использован «сэндвич»-вариант твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к ЛГ. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок), второе конъюгировано с пероксидазой хрена. В лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата анти-ЛГ-пероксидаза, во время инкубации одновременно происходит иммобилизация ЛГ, содержащегося в исследуемом образце, и связывание образовавшегося комплекса с конъюгатом.

Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой. Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству ЛГ в исследуемом образце (Рисунок 1).

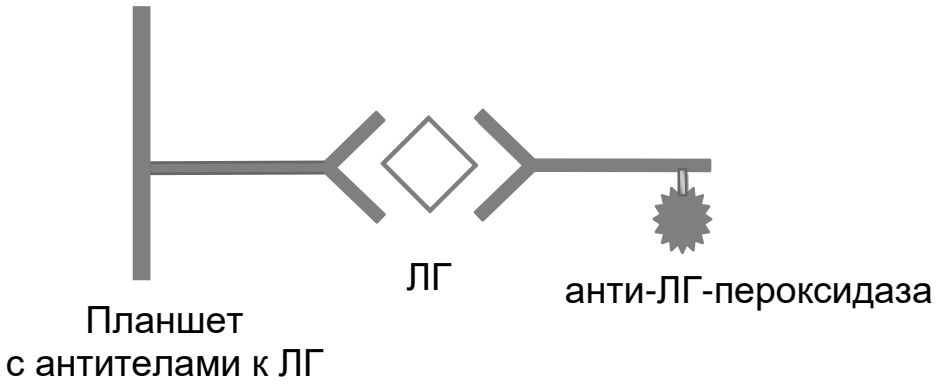



**Рисунок 1. Схема анализа**



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

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

## 2.2. Состав набора

Набор «ГонадотропинИФА-ЛГ» выпускается в двух комплектациях[1]:

Комплектация №1: на 96 определений при проведении анализа вручную в дубликатах 40 неизвестных, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора ТМБ при использовании всего комплекта стрипов одновременно.

Комплектация №2: на 96 определений при проведении анализа на автоматическом анализаторе ««Alisei Q.S.» SEAC, Италия (далее «Alisei») в монопликатах 88 неизвестных, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора ТМБ при использовании всего комплекта стрипов одновременно.

**Обратите внимание,** при каждой постановке анализа обязательно нужно определять оптические плотности (ОП)

[1] Допускается постановка анализа на других автоматических анализаторах для ИФА открытого типа, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора «ГонадотропинИФА-ЛГ» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: (812) 677-8779.



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

калибровочных проб и раствора ТМБ в соответствии со схемой маркировки лунок (**п. 7.2.1.1.**).

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

Основной состав:

- комплект из двенадцати 8-луночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к ЛГ, маркирован «Стрипы с моноклональными антителами к ЛГ» — 1 упаковка;
- калибровочные пробы (КП), аттестованные по Второму международному референсному препарату ЛГ человека WHO 80/552, содержащие известные количества ЛГ. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций ЛГ в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов или в паспорте набора реагентов - 6 или 8* флаконов (лиофилизованные препараты или жидкости) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- контрольная сыворотка с известным содержанием ЛГ, маркирована «Контрольная сыворотка» — 1 флакон или 2 флакона* (лиофилизованный препарат или жидкости) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

***Примечание:** дополнительные флаконы калибровочных проб №2, №5 и контрольной сыворотки предназначены для рекалибрации по референсной калибровочной кривой при постановке на анализаторе «Alisei». За более подробной информацией обращайтесь к



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

инструкции к анализатору «Alisei».

- конъюгат анти-ЛГ-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е» — 1 флакон (14 мл);
- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок маркирован «Буфер Р» — 2 флакона (по 14 мл) или 1 флакон (50 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ» — 1 флакон (14 мл);
- стоп-реагент [3,59% раствор соляной кислоты (ГОСТ 3118-77, ГОСТ 14261-77)], маркирован «Стоп-реагент» — 1 флакон (14 мл) или 2 флакона (по 19 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

Принадлежности**:

- пакет закрывающийся полиэтиленовый (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена) –1 шт.;
- одноразовая ванночка – 2 шт.,
- одноразовый наконечник— 16 шт.;
- Буфер Р (20Х) для автоматических промывочных устройств — 1 флакон (14мл)
- Буфер Р (20Х) для автоматических промывочных устройств — 1 флакон (50 мл);
- Буфер Р (20Х) для автоматических промывочных устройств — 1 флакон (250 мл);
- Буфер Р (20Х) для автоматических промывочных устройств —1 флакон (500 мл);
- Буфер Р (20Х) для автоматических промывочных устройств — 1 флакон (1000 мл).



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

**** Примечание: состав поставляемых с набором принадлежностей определяется заказчиком.**

Таблица 1

| Кат. номер | **100-05** | **100-05 А** |
|---|---|---|
| Название компонента | Комплектация №1 | Комплектация №2 |
| Комплект стрипов в рамке | 1 шт | 1 шт |
| Комплект калибровочных проб | 6 фл (лиофилизованные препараты или жидкости по 0,5 мл) | 8 фл (лиофилизованные препараты или жидкости по 0,5 мл ) |
| Контрольная сыворотка | 1 фл (лиофилизованный препарат) | 2 фл (лиофилизованные препараты) |
| Конъюгат Е | 1 фл - 14 мл | 1 фл -14 мл |
| Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок | 2 фл по 14 мл | 1 фл - 50 мл |
| Раствор ТМБ | 1 фл - 14 мл | 1 фл - 14 мл |
| Стоп-реагент | 1 фл - 14 мл | 2 фл по 19 мл |

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1.** Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции обоих моноклональных антител к β-субъединице ЛГ с хорионическим гонадотропином, фолликулостимулирующим и тиреотропным гормонами.

**3.2.** Коэффициент вариации результатов определения ЛГ в одном и том же образце сыворотки крови человека с использованием набора «ГонадотропинИФА-ЛГ» не



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

превышает 8%.

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

**3.4.** Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» ЛГ — проверка соответствия значения определяемой концентрации ЛГ расчетной величине, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы №3. Процент открытия составляет 90–110%.

**3.5.** Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация ЛГ в сыворотке крови человека не превышает 0,25 мМЕ/мл.

**3.6.** Хук-эффект высоких концентраций. В наборах реагентов, основанных на «сэндвич»-принципе анализа, при высоких концентрациях аналита зависимость величины оптической плотности от концентрации становится обратно пропорциональной (так называемый хук-эффект высоких концентраций). При использовании набора «ГонадотропинИФА-ЛГ» хук-эффект не обнаружен вплоть до концентрации ЛГ 50 000 мМЕ/мл.

**3.7.** Диапазон ожидаемых значений. Содержание ЛГ измеряли в сыворотке крови взятой с 9 до 11 часов у 40 здоровых мужчин в возрасте 21–39 лет, 120 здоровых женщин в возрасте 19–35 лет в различных фазах менструального цикла и 15 женщин в возрасте 49–65 лет в постменопаузе. Средняя концентрация ЛГ у мужчин составила 3,9 мМЕ/мл (0,8–8,4 мМЕ/мл). У женщин в



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

фолликулиновой фазе цикла — 4,2 мМЕ/мл (1,1–8,7 мМЕ/мл), в овуляторном пике — 32,0 мМЕ/мл (13,2–72 мМЕ/мл), в лютеиновой фазе цикла — 5,3 мМЕ/мл (0,9–14,4 мМЕ/мл), в постменопаузе — 39,3 мМЕ/мл (18,6–72 мМЕ/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.

## 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**4.1.** Потенциальный риск применения набора - класс 1 (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.).

**4.2.** Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

**4.3.** При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

**4.4.** Допускать к работе с набором только специально обученный персонал.

**4.5.** Перед началом работы ознакомиться с инструкцией и применять набор строго по назначению.

**4.6.** Стоп-реагент представляет собой 3,59% раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на



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

кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

**4.7.** При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, разрешенные к применению на территории РФ, т.к. производные крови, входящие в состав набора, и исследуемые образцы являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

**4.8.** Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно. Поскольку ИФА чувствителен к ионам металлов, контакт металлических предметов с компонентами набора недопустим.

**4.9.** Для обработки посуды и оборудования рекомендуется использовать дезинфицирующие средства на основе третичных аминов, четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) или спиртов и разрешенные к применению на территории РФ. Использование дезинфицирующих средств на основе активного кислорода и хлора возможно лишь на предстерилизационном этапе, с последующей термической стерилизацией.

**4.10.** Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

**4.11.** Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в



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

соответствии с МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

**4.12.** Удалять неиспользованные реактивы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

**4.13.** Все использованные одноразовые материалы и остатки образцов должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СП 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

**4.14.** После использования стрипы, калибраторы, контроли, образцы и все расходные материалы, которые контактировали с образцами во время обработки, хранения или анализа (флаконы, перчатки, наконечники и т.д.) должны собираться отдельно и стерилизоваться в автоклаве с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10. Вместо автоклавирования наконечники могут быть стерилизованы дезинфицирующим средством, после утилизированы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

**4.15.** Во время процедуры ручной промывки планшета содержимое лунок необходимо удалить в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов.



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

**4.16.** Не использовать набор по истечении срока годности.



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

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн 450 нм и 405 нм[2];
- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 500–800 об/мин при температуре +37° С[2];
- автоматическое промывочное устройство (вошер) для иммунологических планшетов[2,3];

[2] Допускается использование автоматических анализаторов для ИФА открытого типа с аналогичными характеристиками, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора «ГонадотропинИФА-ЛГ» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: (812) 677-8779

[3] При использовании автоматического промывочного устройства необходимо тщательно следить за его состоянием, периодически проверять емкости и соединительные шланги для промывочных буферов на наличие микробиологического зароста и других загрязнений, проводить техническое обслуживание в соответствии с рекомендациями производителя оборудования



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

- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными одноразовыми наконечниками[4] с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; 20–200 мкл; 100–1000 мкл; 1000–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными одноразовыми наконечниками[4], позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 50-500 мл;
- стакан стеклянный подходящего объема;
- вода дистиллированная или очищенная деионизованная[5];
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- контейнер для дезинфекции;
- секундомер;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.

<u>Дополнительно для проведения анализа в термостате:</u>

- термостат, поддерживающий температуру + 37 °С[2]

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

[5] В соответствии с ГОСТ 6709-72 «Вода дистиллированная. Технические условия» необходимо периодически контролировать качество воды, используемой для приготовления растворов.



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

Дополнительно для проведения анализа на анализаторе «Alisei»:

- автоматический иммуноферментный анализатор «Alisei»[2];
- многоцелевые полипропиленовые пробирки[6] 12х75 вместимостью 5 мл;
- концентрированный водный раствор Триала, 5000-кратный концентрат, маркирован «Триал»[6].

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

**6.1.** Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. После центрифугирования сыворотку переносят в отдельную пробирку.

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

**6.3.** Образцы сыворотки крови разрешается хранить при температуре +2…8°С не более пяти суток; при необходимости более длительного хранения (до 3-х месяцев) рекомендуется аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре –20°С и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

[6] Компоненты, не входящие в состав набора; поставляются по отдельному заказу



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

# 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

## 7.1. Подготовка реагентов

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

**7.1.2.** Для восстановления лиофилизованных калибровочных проб и контрольной сыворотки перед вскрытием флаконов легким постукиванием стряхнуть частицы, прилипшие к стенкам флаконов или к крышкам. Открыть флаконы и положить крышки перевернутыми на сухую поверхность. В каждый флакон с калибровочной пробой и контрольной сывороткой внести по 0,5 мл дистиллированной или очищенной деионизованной воды и закрыть крышками. Выдержать флаконы в течение 10 минут при комнатной температуре (+18...25°С) без перемешивания.

Затем, аккуратно наклоняя и вращая флаконы, перемешать их содержимое до полного растворения, избегая пенообразования. В течение следующих 10 минут выдержать флаконы при комнатной температуре, периодически перемешивая.

Контроль растворения лиофилизованных калибровочных проб и контрольной сыворотки проводится визуально, для измерения времени используется секундомер. По истечении 20 минут от начала внесения дистиллированной или очищенной деионизованной воды приготовленные растворы анализируются на однородность, в т.ч. наличие хлопьев, кристаллов и т.п. Контроль растворения пройден, если дополнительные включения отсутствуют и растворы



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

остаются однородными

**7.1.3.** Конъюгат Е готов к использованию.

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

Например: 14 мл буфера Р + 266 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

**7.1.5.** Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию.

**7.1.6.** Стоп-реагент готов к использованию.

**7.1.7.** Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры (+18...25°С).

**7.1.8.** Рабочий раствор Триала. Необходимое количество концентрированного раствора Триала развести дистиллированной или очищенной деионизованной водой в 5000 раз.

Например: 1 мл Триала + 4999 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

## 7.2. Постановка анализа

**7.2.1.** Ручная постановка

На странице 28 приведена схема проведения анализа при ручной постановке.

**7.2.1.1.** Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

А1, А2 — №1 - для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;

В1, В2 — №2 - для измерения величины оптической плотности КП №1;



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

C1, C2 — №3 - для измерения величины оптической плотности КП №2;

D1, D2 — №4 - для измерения величины оптической плотности КП №3;

E1, E2 — №5 - для измерения величины оптической плотности КП №4;

F1, F2 — №6 - для измерения величины оптической плотности КП №5;

G1, G2 — №7 - для измерения величины оптической плотности КП №6;

H1, H2 — №8 - для измерения величины оптической плотности контрольной сыворотки.

**7.2.1.2.** Во все лунки, кроме лунок A1 и A2, внести по 100 мкл конъюгата.

**7.2.1.3.** Внести в соответствующие лунки по 20 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки - по 20 мкл исследуемой сыворотки крови в дубликатах.

***Примечание:*** *общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых сывороток крови не должно превышать 15 минут, иначе время инкубации разных образцов будет значительно различаться, что приведет к неправильным результатам.*

**7.2.1.4.** Инкубировать стрипы. Возможны 2 варианта инкубации:

- **в течение 60 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре +37°С со скоростью 500–800 об/мин**
- **в течение 120 минут в термостате при температуре +37°С без шейкирования** (предварительно встряхнуть



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

рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 1-2 минут при комнатной температуре)

**7.2.1.5.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов и промыть лунки пять раз. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по **п. 7.1.4.,** встряхнуть рамку 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.

**7.2.1.6.** Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора. Возможны 2 варианта инкубации с ТМБ:

- **инкубирование стрипов в темноте в течение 10 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре +37 °С со скоростью 500-800 об/мин**.
- **инкубирование стрипов в течение 15-30 минут в темноте без шейкирования при комнатной температуре (+18…25 °С)**.

**7.2.1.7.** Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или перемешать на шейкере в течение 1–2 минут при комнатной температуре.



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

**7.2.1.8.** Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения п. **7.2.1.7**., то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при комнатной температуре.

***Примечание:*** *максимальная оптическая плотность не должна превышать пределов линейного измерения спектрофотометра. Рабочий диапазон спектрофотометра необходимо уточнять в паспорте прибора. Рекомендуемая максимальная оптическая плотность не более 2,5 ед. ОП.*

**7.2.2.** Постановка на анализаторе «Alisei»

Анализатор «Alisei» имеет полностью автоматизированный процесс проведения анализа: внесение реагентов, промывка, инкубирование, измерение оптической плотности, обработка результатов. Программа определения концентрации ЛГ введена в память анализатора.

**7.2.2.1.** В случае дробного применения набора необходимо извлечь калибровочные пробы и контрольную сыворотку из автоматического анализатора после их внесения в лунки всех планшетов, участвующих в постановке, и, плотно закрыв крышками, убрать в холодильник. Не допускается повторное использование калибровочных проб и контрольной сыворотки, находившихся на борту анализатора в течение всей сессии, вне зависимости от ее длительности. Остальные жидкие реагенты убрать в холодильник сразу по окончании сессии. Эти ограничения обусловлены естественным испарением жидкостей, приводящим к получению некорректных



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

результатов измерения при последующем использовании реагентов.

**7.2.2.2.** Для каждой новой серии набора реагентов необходимо построение нового калибровочного графика с концентрациями калибровочных проб, указанными на этикетках флаконов или в паспорте набора реагентов.

**7.2.2.3.** При каждой постановке рекомендуется определение концентрации ЛГ в контрольной сыворотке.

**7.2.2.4.** Не допускается рекалибрация по калибровочной кривой, полученной на наборе другой серии.

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

**8.1.** После выполнения ручной постановки измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм**.** Если значение оптической плотности превышает предел линейного измерения спектрофотометра, считывание результатов проводят при 405 нм. Рабочий диапазон спектрофотометра необходимо уточнять в паспорте прибора.

При регистрации результатов **необходимо вычитать** величину оптической плотности в лунках с ТМБ из значений оптических плотностей всех остальных лунок.

***Примечание****: среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с ТМБ не должно превышать 0,09 ед. ОП при 450 нм*.



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

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

**9.1.** Построить калибровочный график зависимости оптических плотностей от концентрации ЛГ (мМЕ/мл) в калибровочных пробах (Рисунок 2). Внешний вид графика зависит от способа преобразования осей.

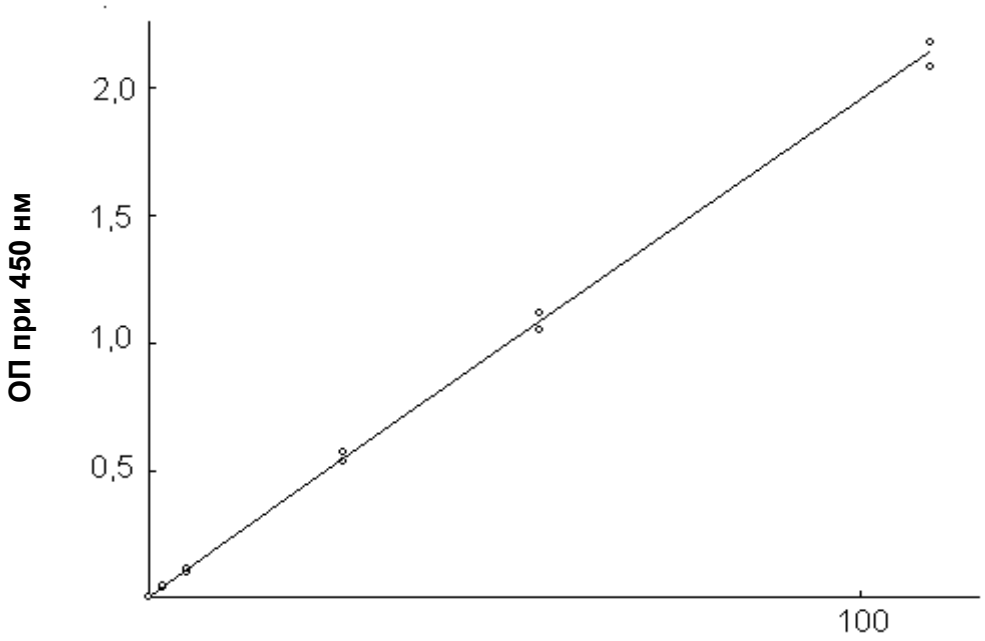



**Рисунок 2. Типичный калибровочный график**

***Примечание 1:*** *для построения калибровочных графиков рекомендуется использовать Программное обеспечение «ИФА Мастер», выбирая для аппроксимации зависимости функцию 4 PL.*

***Примечание 2:*** *для построения калибровочного графика на масштабной бумаге необходимо использовать данные оптических плотностей после вычитания из них средней величины оптической плотности лунок с ТМБ.*



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

*Если программа фотометра не позволяет вычитать величину оптической плотности лунок А1 и А2, то необходимо пользоваться формулой:*

$$B–B_T,$$

*где В – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы,*

$B_T$ *— среднее арифметическое значение оптической плотности лунок А1 и А2.*

**9.2.** Определить содержание ЛГ в пробах по калибровочному графику.

**9.3.** Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации ЛГ, превышающих номинал КП №6, не допускается. При наличии таких случаев принимать значение концентрации исследуемого образца «выше концентрации КП №6».

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**10.1.** Набор «ГонадотропинИФА-ЛГ» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...8°С в течение всего срока годности.

Срок годности набора — 18 месяцев.

**10.2.** Набор следует вынимать из холодильника не более чем за 1 час, но не позже, чем за 30 минут до проведения анализа.

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

- стрипы поместить в пакет с этикеткой, затем в пакет закрывающийся из пленки полиэтиленовой и герметично



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

закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2...8°С в течение всего срока годности;

- восстановленные (растворенные) из лиофилизованных препаратов калибровочные пробы и контрольную сыворотку хранить при температуре +2...8°С не более шести месяцев;
- конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более шести месяцев;
- стоп-реагент, концентрированные водно-солевой раствор для промывки лунок и раствор Триала после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8 °С в течение всего срока годности;
- водно-солевой раствор для промывки лунок и рабочий раствор Триала, подготовленные к использованию, хранить закрытыми при комнатной температуре (+18…25 °С) не более 5 суток.

**10.4.** При использовании набора для проведения нескольких независимых анализов необходимо иметь в виду следующее:

- для каждого независимого эксперимента необходимо построение нового калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации ЛГ в контрольной сыворотке;
- запрещается возвращать избыток конъюгата, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;
- из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно



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

закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения.

**10.5.** Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных партий, за исключением ТМБ, стоп-реагента и концентрированного промывочного раствора, входящих в состав данного набора реагентов.

**10.6.** Запрещается использовать промывочный раствор, стоп-реагент и ТМБ из наборов реагентов других фирм-производителей.

**10.7.** Запрещается использовать промывочные растворы производства Алкор Био с буквенными обозначениями, отличными от указанного в инструкции к набору.

**10.8.** К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

**10.9.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

## 11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

**11.1.** Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта при температуре +2 ...8 °С. Допускается транспортирование набора при температуре до +25 ° С не более 15 суток, в том числе при температуре+37°С не более 1 суток.

**11.2.** Набор, транспортированный с нарушением температурного режима, применению не подлежит.



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

## 12. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

**12.1.** При утилизации наборы с истекшим сроком годности должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами в соответствии с требованиями МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

**12.2.** После стерилизации (п.4.14) все компоненты и расходные материалы могут быть утилизированы как отходы класса А. Другие компоненты набора должны быть утилизированы как отходы класса А в соответствии с требованиями СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

## 13. ТРЕБОВАНИЯ К ПЕРСОНАЛУ, УЧАСТВУЮЩЕМУ В ВЫПОЛНЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим или иным образованием, окончившие соответствующие курсы специальной подготовки с освоением методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I-II групп патогенности. Персонал, проводящий исследования с использованием данного набора реагентов, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований и работы на соответствующем оборудовании.



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

## 14. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам качества набора «ГонадотропинИФА-ЛГ» обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный проспект, д. 40, лит. А, тел/факс: (812) 677-8779.

## 15. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

| | | | |
|---|---|---|---|
| IVD | Только для диагностики *in vitro* |  | Количество тестов |
| REF | Номер по каталогу |  | Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению |
| LOT | Номер серии |  | Срок годности |
|  | Производитель |  | Хранить при |
|  | Дата изготовления |  | Биологическая опасность |
|  | Обратитесь к инструкции по применению |  | Беречь от влаги |

***Примечания к Схеме проведения анализа (стр.28):***

*КП — калибровочная проба;*
*КС — контрольная сыворотка;*
*ОП — оптическая плотность;*
*КТ — комнатная температура (+18...25 °С);*
*ПО – программное обеспечение.*



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

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



# *СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА* (только для ручной постановки)

| № | Стадия (операция) | Реагенты | Темпе-ратура | Время | Примечания |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Внесение реагентов | ***100 мкл*** *конъюгата* | **КТ (+18… 25°С)** | Внесение КП, КС и исследуемых образцов не более 15’ | В лунки для определения ОП ТМБ ничего не вносить |
| 2 | | ***20 мкл*** *КП и КС* | | | |
| 3 | | ***20 мкл*** *исследуемых образцов* | | | |
| 4 | **Инкубация** | — | **+37°С** | 60’ | Термостатируемый **шейкер**, 500 – 800 об/мин |
| | | | | 120’ | Перед инкубацией перемешать. **Термостат,** без шейкирования |
| 5 | Промывка | ***300 мкл*** *в лунку* ***1*промывочного раствора*** (5 раз) | | | **1***промывочный раствор = = 14 мл буфера Р + 266 мл $H_2O$ |
| 6 | Внесение хромогена | ***100 мкл ТМБ*** | | | |
| 7 | **Инкубация с ТМБ** | — | **КТ** | 15-30’ | В темноте, без шейкирования |
| | | | **+37°С** | 10’ | Термостатируемый **шейкер**, 500 – 800 об/мин |
| 8 | Остановка ферментной реакции | ***100 мкл стоп-реагента*** | | | |
| 9 | Перемешивание | | **КТ** | 20 – 30’’ | Постукивание рамки |
| | | | **КТ** | 1 – 2’ | **Шейкер** |
| 10 | Регистрация результатов | — | | В течение 20’ после остановки ферментной реакции | **Фотометр**, 450 нм, 405 нм |
| 11 | Обработка результатов | — | | | Калькулятор и масштабная бумага/ соответствующее ПО |