ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO НАБОРА РЕАГЕНТОВ С ПРИНАДЛЕЖНОСТЯМИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ **ПРОЛАКТИНА** В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА **(«ИФА-пролактин»)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ИФА-пролактин» предназначен для количественного определения пролактина в сыворотке крови человека.

1.2. Пролактин является полипептидным гормоном гипофизарного происхождения с молекулярной массой около 23 000 Да. Определение концентрации пролактина имеет диагностическое значение при нарушении функций половых желез у обоих полов. У женщин при гиперпролактинемии может отмечаться галакторея, аменорея или ряд других нарушений менструального цикла, в то время как мужчины могут страдать потерей либидо или импотенцией. Измерение концентрации циркулирующего пролактина важно как первичный тест на бесплодие.

Патологическая гиперпролактинемия имеет место при

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

гипотиреоидизме, почечной недостаточности и у лиц с секретирующей пролактин опухолью гипофиза — пролактиномой.

Физиологическое повышение уровня пролактина имеет место во время беременности, лактации, сна и при физическом и эмоциональном стрессе.

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

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

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

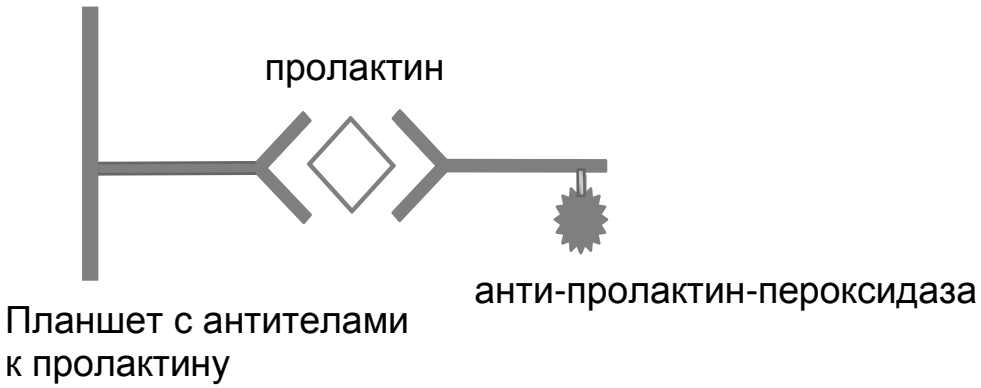


Рисунок 1. Схема анализа

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 пролактина в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация пролактина в исследуемых образцах.

2.2. Состав набора

Набор «ИФА-пролактин» 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 «ИФА-пролактин» 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 пролактину, маркирован «Стрипы с моноклональными антителами к пролактину» - 1 упаковка;
- калибровочные пробы (КП), аттестованные по Третьему международному стандарту пролактина человека WHO 84/500, содержащие известные количества пролактина. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций пролактина в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов или в паспорте набора реагентов - 6 или 8* флаконов (жидкости по 0,5 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- контрольная сыворотка с известным содержанием пролактина, маркирована «Контрольная сыворотка» — 1 флакон или 2 флакона* (жидкость 0,5 мл) 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

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

постановке на анализаторе «Alisei». За более подробной информацией обращайтесь к инструкции к анализатору «Alisei».

- конъюгат анти-пролактин-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);

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

- Буфер Р (20Х) для автоматических промывочных устройств — 1 флакон (1000 мл).

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

Таблица 1

Кат. номер	**100-04**	**100-04А**
Название компонента	Комплектация №1	Комплектация №2
Комплект стрипов в рамке	1 шт	1 шт
Комплект калибровочных проб	6 фл (жидкости по 0,5 мл)	8 фл (жидкости по 0,5 мл)
Контрольная сыворотка	1 фл (жидкость 0,5 мл)	2 фл (жидкости по 0,5 мл)
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

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции обоих моноклональных антител к пролактину с гормоном роста, плацентарным лактогеном, тиреотропным, фолликулостимулирующим и лютеинизирующим гормонами человека.

3.2. Коэффициент вариации результатов определения пролактина в одном и том же образце сыворотки крови человека с использованием набора «ИФА-пролактин» не превышает 8%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации пролактина 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» пролактина — проверка соответствия значения определяемой концентрации пролактина 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 пролактина в сыворотке крови человека не превышает 50 мМЕ/л.

3.6. Хук-эффект высоких концентраций. В наборах реагентов, основанных на «сэндвич»-принципе анализа, при высоких концентрациях аналита зависимость величины

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

оптической плотности от концентрации становится обратно пропорциональной (так называемый хук-эффект высоких концентраций). При использовании набора «ИФА-пролактин» хук-эффект не обнаружен вплоть до концентрации пролактина 100 000 мМЕ/л.

3.7. Диапазон ожидаемых значений. Концентрация пролактина в сыворотке крови у 120 здоровых доноров находилась в интервале: для мужчин 105–540 мМЕ/л, для женщин 67–726 мМЕ/л.

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.

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

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 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.

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

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 соответствии 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

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

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.

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 «ИФА-пролактин» 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;
- дезинфицирующий раствор на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов;
- контейнер для дезинфекции;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.

[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 в термостате:

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

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

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

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.

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. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

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).

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

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:

A1, A2 — №1 - для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;

B1, B2 — №2 - для измерения величины оптической плотности КП №1;

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.

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

7.2.1.2. Во все лунки, кроме лунок А1 и А2, 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 180 минут в термостате при температуре +37°С без шейкирования** (предварительно встряхнуть 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

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

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 ТМБ. Инкубировать стрипы. 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.

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.*

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

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 пролактина 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 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 и в паспорте набора реагентов.

7.2.2.3. При каждой постановке рекомендуется определение концентрации пролактина в контрольной сыворотке.

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

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

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*.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

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

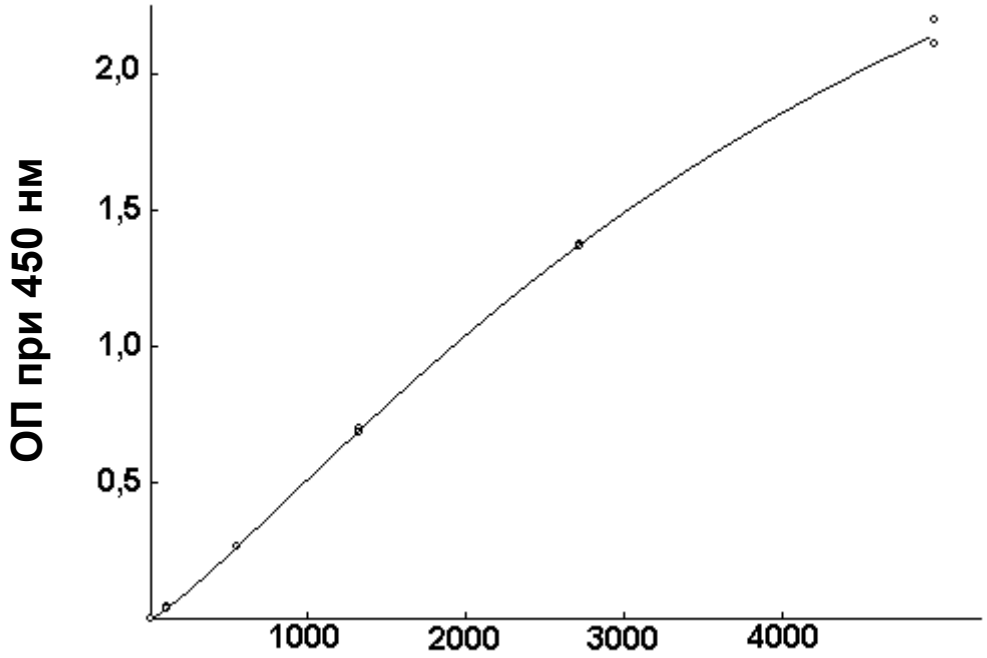


Рисунок 2. Типичный калибровочный график

Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!

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.*

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

$$B–B_T,$$

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

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 пролактина в пробах по калибровочному графику.

9.3. Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации пролактина, 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 «ИФА-пролактин» 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 до начала анализа, 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 полиэтиленовый и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2...8°С в течение всего срока годности;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более шести месяцев;

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

- конъюгат Е 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 пролактина 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 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

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

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.

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,

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

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.

14. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

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

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

15. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Только для *in vitro* диагностики		Количество тестов
REF	Номер по каталогу		Острожно! 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)**		В лунки для определения ОП ТМБ ничего не вносить
2		**20 мкл** КП и КС		Внесение КП, КС и исследуемых образцов не более 15’	
3		**20 мкл** исследуемых образцов			
4	**Инкубация**	—	**+37°С**	60’	Термостатируемый **шейкер**, 500 – 800 об/мин
				180’	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**	1 – 2’	**Шейкер**
			КТ	20 – 30’’	**Постукивание рамки**
10	Регистрация результатов	—		В течение 20’ после остановки ферментной реакции	**Фотометр**, 450 нм, 405 мн
11	Обработка результатов	—			Калькулятор и масштабная бумага/ соответствующее ПО