ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Медицинского изделия для диагностики in vitro Набора реагентов с принадлежностями для количественного иммуноферментного определения хорионического гонадотропина человека в сыворотке крови человека «ГонадотропинИФА-ХГч»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ГонадотропинИФА-ХГч» предназначен для количественного определения хорионического гонадотропина человека (далее ХГч) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. ХГч является гликопротеином с молекулярной массой около 37 000 Да, состоящим из двух субъединиц — альфа и бета. Количественное определение уровня ХГч считается наиболее надежным индикатором при ранней диагностике беременности. Изменение концентрации ХГч в сыворотке крови беременных женщин является важным показателем пренатальной диагностики некоторых врожденных заболеваний (открытые пороки медуллярной трубы, синдром Дауна). Кроме того, определение концентрации ХГч в сыворотке крови широко применяется в акушерстве при

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

диагностике множественной беременности, угрозе выкидыша и внематочной беременности.

Хотя присутствие ХГч в сыворотке крови обычно связано с нормальной беременностью, повышенные уровни ХГч также обнаруживаются у больных с тератогенными карциномами и трофобластическими новообразованиями и (иногда в случаях эктопического синтеза ХГч) при раке яичка, молочной железы, тонкого кишечника, легких и предстательной железы. Уровень ХГч при некоторых видах рака может достигать величин, превышающих 100 000 МЕ/л. Измерение уровня ХГч является важным методом диагностики и мониторинга таких заболеваний.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

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

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

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

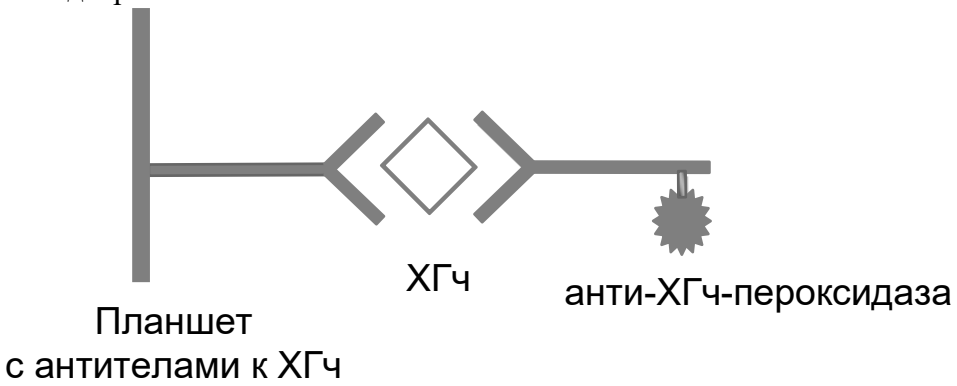


Рисунок 1. Схема анализа

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации ХГч в анализируемых пробах.

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

2.2. Состав набора

Набор «ГонадотропинИФА-ХГч» рассчитан 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 или при проведении анализа на автоматическом анализаторе «Alisei Q.S» SEAC, Италия (далее Alisei)[1] в монопликатах 88 неизвестых, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности

[1] 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-ХГч» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: (812) 677-8779

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

раствора ТМБ при использовании всех стрипов одновременно.

Обратите внимание, при каждой постановке анализа обязательно нужно определять оптические плотности (ОП) калибровочных проб и раствора ТМБ в соответствии со схемой маркировки лунок (**п. 7.2.1.**).

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

Основной состав:

- комплект из двенадцати 8-луночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к ХГч, маркирован «Стрипы с моноклональными антителами к ХГч» – 1 упаковка;
- калибровочные пробы (КП), аттестованные по Четвертому международному стандарту WHO 75/551, содержащие известные количества ХГч. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; в диапазоне 0- 500 МЕ/л, точные значения концентраций ХГч в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов и в паспорте набора реагентов– 6 флаконов (жидкости по 0,5 мл);
- конъюгат анти-ХГч-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е» — 1 флакон (18 мл);
- водно-солевой раствор для разведения образцов сыворотки крови, маркирован «Буфер Д» – 2 флакона (по 20 мл);

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

• концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Р» — 1 флакон (50 мл);
• 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» — 2 флакона (по 19 мл);
• контрольная сыворотка с известным содержанием ХГч, маркирована «Контрольная сыворотка» — 1 флакон (жидкость 0,5 мл).

Принадлежности*:

• пакет закрывающийся полиэтиленовый (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена) -1 шт;
• одноразовая ванночка – 2 шт;
• одноразовый наконечник – 16 шт.

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция обоих моноклональных антител к β-субъединице ХГч с другими гормонами приведена в Таблице 1.

Таблица 1

Гормон	Перекрестная реакция, %
ТТГ	<0,1
ФСГ	<0,5
ЛГ	<1,3

3.2. Коэффициент вариации результатов определения ХГч в одном и том же образце сыворотки крови человека с

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

использованием набора «ГонадотропинИФА-ХГч» не превышает 8%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации ХГч в образцах сыворотки крови при разведении их буфером Д имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №2 - №6 и составляет 90-110%.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» ХГч — проверка соответствия значения определяемой концентрации ХГч 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 ХГч в сыворотке крови человека не превышает 5 МЕ/л.

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-ХГч» хук-эффект не обнаружен вплоть до концентрации ХГч 400 000 МЕ/л.

3.7. Диапазон ожидаемых значений. Концентрация ХГч у 200 здоровых доноров обоих полов в возрасте 18–40 лет не превышала 10 МЕ/л. В Таблице 2 приведены значения ожидаемых показателей ХГч у женщин на различных сроках нормально протекающей беременности и соответствующие им рекомендуемые разведения анализируемой сыворотки крови перед проведением анализа.

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

Таблица 2

Срок беременности (полных недель)	Медиана, МЕ/л	Толерантные пределы, МЕ/л	Рекомендуемое разведение сыворотки крови
2	150	50–300	без разведения
3–4	2 000	1 500–5 000	1:20
4–5	20 000	10 000–30 000	1:400
5–6	50 000	20 000–100 000	1:400
6–7	100 000	50 000–200 000	1:400 и 1:2000
7–8	80 000	40 000–200 000	1:400 и 1:2000
8–9	70 000	35 000–140 000	1:400
9–10	65 000	32 500–130 000	1:400
10–11	60 000	30 000–120 000	1:400
11–12	55 000	27 500–110 000	1:400
13–14	50 000	25 000–100 000	1:400
15–16	40 000	20 000–80 000	1:400
17–21	30 000	15 000–60 000	1:400

Значение медианы, рассчитанное для каждого срока беременности, зависит от многих факторов: специфичности метода, особенностей исследуемой популяции, точности метода в конкретной лаборатории. По этой причине каждой лаборатории рекомендуется использовать предоставленные изготовителем значения медиан только до тех пор, пока специалистами лаборатории не будут определены медианы, характерные для конкретной популяции в месте расположения лаборатории.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2б (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.).

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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

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

4.4. Допускать 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.

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 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

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

на основе активного кислорода и хлора возможно лишь на предстерилазационном этапе, с последующей термической стерелизацией.

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 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

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

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 выбрасывать в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов.

4.16. Не использовать набор по истечении срока годности.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм и 405 нм[2];
- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 400–800 об/мин при температуре +37°С[2];
- автоматическое промывочное устройство (вошер) для иммунологических планшетов[2,3];
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками[4] с изменяемым объемом

[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-ХГч» 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

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

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

отбора жидкостей: на 5–50 мкл; 20–200 мкл; 100–1000 мкл; 1000–5000 мкл;

- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными 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

Дополнительно для проведения 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

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

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

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

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 2-х 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 готов к использованию. Расход конъюгата на один стрип составляет 1,5 мл (при ручной постановке).

7.1.4. Буфер Д готов к использованию.

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

Например:

50 мл буфера Р + 950 мл воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

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

7.1.6. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию. Расход ТМБ на один стрип составляет 1,16 мл (при ручной постановке).

7.1.7. Стоп-реагент готов к использованию. Расход стоп-реагента на один стрип составляет 1,16 мл (при ручной постановке).

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

7.1.9. Разведение исследуемых образцов сывороток крови. При разведении образцов использовать одноразовые материалы. Если по предварительным данным или по результатам анализа (см. **п. 9.3**) значения концентрации ХГч в исследуемых образцах выше КП №6, образцы следует развести буфером Д в 20, 400, 2000 раз (см. Таблицу 2):

Образец №1 (разведение в 20 раз):

190 мкл буфера Д + 10 мкл исследуемого образца.

Образец №2 (разведение в 400 раз):

190 мкл буфера Д + 10 мкл образца №1.

Образец №3 (разведение в 2000 раз):

160 мкл буфера Д+ 40 мкл образца №2.

При каждом разведении необходимо тщательное перемешивание.

При проведении анализа на анализаторе «Alisei» разведение исследуемых образцов может производиться как в соответствии с инструкцией к анализатору, так и вручную.

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

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

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

7.2. Постановка анализа

7.2.1. Ручная постановка

На странице 24 приведена схема проведения анализа.

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.

7.2.1.2. Во все лунки, кроме лунок A1 и A2, внести по 150 мкл конъюгата.

7.2.1.3. Внести в соответствующие лунки по 50 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки - по 50 мкл исследуемой сыворотки крови в дубликатах.

Примечание: *общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых сывороток*

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

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 **в течение 60 минут** при встряхивании **в термостатируемом шейкере при температуре +37°С со скоростью 500-800 об/мин**.

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. 7.1.5.**, 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 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 темноте без встряхивания при комнатной температуре (+18…25°С) в течение 15–30 минут в зависимости от степени развития окраски.**

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-

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

реагента для остановки ферментной реакции, встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 1-2 минут при комнатной температуре (+18…25°С).

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 ХГч 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

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

сессии. Эти ограничения обусловлены естественным испарением жидкостей, приводящим к получению некорректных результатов измерения при последующем использовании реагентов.

7.2.2.2. Для каждого независимого эксперимента 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 ХГч в контрольной сыворотке.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 ХГч (МЕ/л) в

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

калибровочных пробах (Рисунок 2). Внешний вид графика зависит от способа преобразования осей.

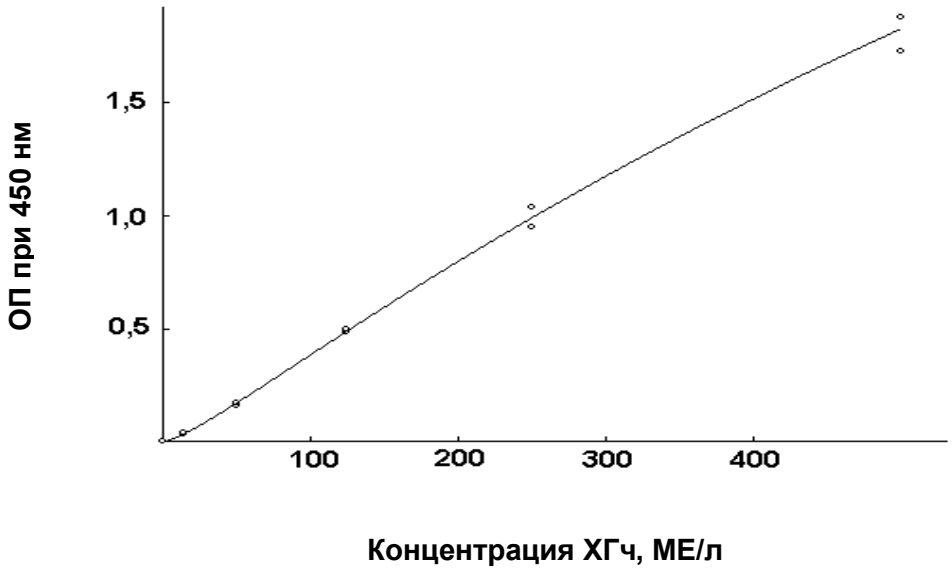


Рисунок 2. Типичный калибровочный график

Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!

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

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 ХГч в пробах по калибровочному графику. В случае дополнительного разведения образцов необходимо измеренную концентрацию ХГч умножить на фактор разведения.

9.3. Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации ХГч, превышающих номинал КП №6, не допускается. Для точного определения концентрации ХГч в таких образцах необходимо выполнить их разведение в соответствии с **п. 7.1.9.**

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

Срок годности набора — 12 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 сначала в пакет с этикеткой, затем в пакет закрывающийся из пленки полиэтиленовой и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете с замком при температуре +2...8°С в течение всего срока годности;

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

- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- конъюгат, буфер Д и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- 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;
- концентрированные водно-солевой раствор для промывки лунок и раствор Триала, стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С в течение всего срока годности.

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

- количество независимых экспериментов при ручной постановке, которое можно провести с помощью данного набора (4 эксперимента), ограничено объемом калибровочных проб;
- для каждого независимого эксперимента необходимо построение нового калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации ХГч 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.

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

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

«Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

12.2. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые утилизируются в соответствии с СанПиНом 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 «ГонадотропинИФА-ХГч» 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		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:

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	**150 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		**50 мкл** КП и КС			
3		**50 мкл** исследуемых образцов			
4	**Инкубация**	—	**+37°С**	60’	Термостатируемый **шейкер**, 500-800 об/мин
5	Промывка	**300 мкл** в лунку **1****промывочного раствора** (5 раз)			**1***промывочный раствор = = 50 мл буфера Р + 950 мл H_2O
6	Внесение хромогена	**100 мкл** ТМБ			
7	**Инкубация с ТМБ**	—	**+37°С**	10’	В темноте, Термостатируемый **шейкер**, 500-800 об/мин
			КТ	15-30’	В темноте, без встряхивания
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