

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»



2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного определения концентрации хорионического гонадотропина

в сыворотке крови

(ХГЧ – ИФА – БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации хорионического гонадотропина в сыворотке крови «ХГЧ – ИФА – БЕСТ» предназначен для определения концентрации хорионического гонадотропина (ХГЧ) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. ХГЧ представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 36700 Да, состоящий из альфа- и бета-субъединиц. Альфа-цепь является общей для трех других гликопротеиновых гормонов гипофиза: тиреотропного, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего. Бета-субъединица с молекулярной массой 23000 Да обладает специфической активностью и антигенными свойствами. ХГЧ является одним из важнейших маркеров беременности, а также опухолевым маркером.

1.3. Количественное определение содержания ХГЧ в сыворотке крови может быть использовано для ранней диагностики беременности, диагностики и мониторинга беременности с целью выявления угрожающего выкидыша и другой патологии, диагностики внематочной беременности, контроля эффективности терапии угрозы прерывания беременности, скринингового обследования беременных с целью выявления врожденных пороков развития плода, а также диагностики и мониторинга опухолей, продуцирующих ХГЧ, оценки эффективности хирургического вмешательства или химиотерапии, выявления рецидивов.

1.4. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного образца, 6 калибровочных образцов и 1 контрольного образца, всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением поли- и моноклональных антител к ХГЧ.

В лунках, при добавлении исследуемого образца, во время первой инкубации происходит связывание молекул ХГЧ с поликлональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Во время второй инкубации конъюгат моноклональных антител к бета-субъединице ХГЧ с пероксидазой связывается с ХГЧ, иммобилизованным в ходе первой инкубации. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски пропорциональна концентрации ХГЧ в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ХГЧ в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок поликлональными антителами к ХГЧ, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества ХГЧ – 0; 15; 50; 125; 250; 500 МЕ/л; аттестованные относительно WHO International Standard NIBSC 75/589; концентрации ХГЧ в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольный образец на основе сыворотки крови человека с известным содержанием ХГЧ, аттестованный относительно WHO International Standard NIBSC 75/589, готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к бета-субъединице ХГЧ с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор для разведения сывороток (PPC) – 2 флакона (по 20 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Принадлежности:

- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночка для реагента – 2 шт.;
- наконечники для пипетки на 5–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции используемых в наборе антител к ХГЧ с тиреотропным, лютеинизирующим и фолликулостимулирующим гормонами.

3.2. Использование в наборе реагентов специфических блокирующих агентов исключает возможность получения ложноположительных результатов в сыворотках крови, содержащих гетерофильные, в том числе антимышьиные (НАМА), антитела.

3.3.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации ХГЧ в лунках, содержащих контрольный образец не превышает 8%.

3.4.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчетной величины концентрации ХГЧ при разведении калибровочных образцов, содержащих 500; 250; 125 МЕ/л, в 2 раза, и калибровочного образца 50 МЕ/л в 3,3 раза. Процент «линейности» составляет 90–110%.

3.5.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ХГЧ предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца с концентрацией ХГЧ 50 МЕ/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.6.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация ХГЧ, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца B_0 , плюс $2s$ (s – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0) не превышает 2 МЕ/л.

3.7. Клиническая проверка. Концентрация ХГЧ, измеренная в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч, у 117 здоровых небеременных женщин и здоровых мужчин в возрасте 20–50 лет, не превышала 15 МЕ/л.

В таблице 2 приведены значения ожидаемых концентраций ХГЧ у женщин на различных сроках нормально протекающей беременности и соответствующие им рекомендуемые разведения сыворотки перед проведением анализа.

3.8. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации ХГЧ, соответствующие нормальным, у обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим

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

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинично-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

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

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 400–800 об/мин;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости от 5 до 350 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес. Допускается однократное заморажива-

ние-размораживание образцов сыворотки крови. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1000–1500 об/мин в течение 10 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при температуре от 18 до 25°C в течение времени не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 ч после установки. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление рабочего буферного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

В таблице 1 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный рабочий буферный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

7.4. Подготовка калибровочных образцов и контрольного образца

Калибровочные образцы и контрольный образец готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Калибровочные образцы и контрольный образец после первого вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.5. Предварительное разведение исследуемых сывороток

При выборе разведения исходного образца сыворотки рекомендуется учитывать концентрацию ХГЧ при разных сроках беременности (см табл. 2).

Если предполагается, что концентрация ХГЧ в анализируемых образцах выше 500 МЕ/л, исходные образцы разводят раствором для разведения сывороток (PPC) в 10, 100, 1000 и более раз, например, следующим образом:

- 20 мкл исследуемого образца + 180 мкл PPC – разведение в 10 раз (раствор А);
- 20 мкл раствора А + 180 мкл PPC – разведение в 100 раз (раствор Б), и т. д.

Внимание ! PPC взаимозаменяем в наборах реагентов D-4154 «ХГЧ – ИФА – БЕСТ» и T-8468 «ТБГ – ИФА – БЕСТ».

7.6. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать (*не сливать во флакон с исходным конъюгатом*).

В таблице 1 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс

Раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс) готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор ТМБ плюс утилизировать (*не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс*).

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина плюс.

В таблице 1 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Раствор ТМБ плюс после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

После вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внести в соответствующие лунки в дублях по 20 мкл каждого калибровочного образца и по 20 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 20 мкл анализируемых образцов сыворотки крови в соответствующем разведении (см п. 7.5.).

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин при использовании всех лунок планшета.

7.10. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего буферного раствора (см п. 7.3).

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при встряхивании на шейкере при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ и 650 об/мин.

7.12. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз рабочим буферным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого цикла промывки.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см п. 7.6.).

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при встряхивании на шейкере при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ и 650 об/мин.

7.15. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет 5 раз так, как это указано в п. 7.12.

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина плюс (см п. 7.7) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ и 650 об/мин.

Для внесения раствора тетраметилбензидина плюс использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора

7.17. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина плюс, по 100 мкл стоп-реагента; встряхнуть планшет на шейкере в течение 10–15 сек, при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине вол-

ны сравнения в диапазоне 620–650 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху).

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации ХГЧ в калибровочных образцах (МЕ/л).

9.3. Определить содержание ХГЧ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих анализируемые образцы. В случае предварительного разведения анализируемых образцов (п. 7.5.) необходимо полученную концентрацию ХГЧ умножить на фактор разведения.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов ХГЧ-ИФА-БЕСТ должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (18 мес).

10.2. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- калибровочные образцы, контрольный образец и конъюгат после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- рабочий буферный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

10.4. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации ХГЧ в контрольном образце.

10.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (раствор ТМБ плюс, ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

Запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

10.7. Не допускается применение серии набора по истечении срока ее годности.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или

некачественного изготовления изделия производителем.

**По вопросам, касающимся качества набора
«ХГЧ – ИФА – БЕСТ»,
обращаться в АО «Вектор-БЕСТ» по адресу:**

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации ХГЧ в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;
- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;
- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;
- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);
- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;
- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

- Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.
- Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.
- Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.
- Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.
- Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обяза-

тельно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

2. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

- соотношение оптических плотностей калибровочных образцов:

$$ОП_0 < ОП_{15} < ОП_{50} < ОП_{125} < ОП_{250} < ОП_{500};$$

- $ОП_{500} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации ХГЧ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{15}$, $ОП_{50}$, $ОП_{125}$, $ОП_{250}$ и $ОП_{500}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0, 15, 50, 125, 250 и 500 МЕ/л соответственно.

3. Расчет результатов анализа

По результатам измерения вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности (ОП) в лунках с анализируемыми образцами.

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации ХГЧ (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий. Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию ХГЧ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации ХГЧ в образце.

4. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ХГЧ – ИФА – БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести: по 20 мкл калибровочных образцов и контрольного образца в дублях;
по 20 мкл анализируемых образцов в рабочем разведении в дублях.

Внести: по 100 мкл рабочего буферного раствора.

Инкубировать: 30 мин, 37°C, 650 об/мин.

Промыть: рабочим буферным раствором, 350 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 30 мин, 37°C, 650 об/мин.

Промыть: рабочим буферным раствором, 350 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 15 мин, 37°C, 650 об/мин,
в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм

5. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-23-77.

Таблица 1

Расход компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл	Рабочий буферный раствор	
			ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
2	2,0	2,0	4,0	до 100
3	3,0	3,0	6,0	до 150
4	4,0	4,0	8,0	до 200
5	5,0	5,0	10,0	до 250
6	6,0	6,0	12,0	до 300
7	7,0	7,0	14,0	до 350
8	8,0	8,0	16,0	до 400
9	9,0	9,0	18,0	до 450
10	10,0	10,0	20,0	до 500
11	11,0	11,0	22,0	до 550
12	12,0	12,0	24,0	до 600

* по ГОСТ Р 51352-2013.

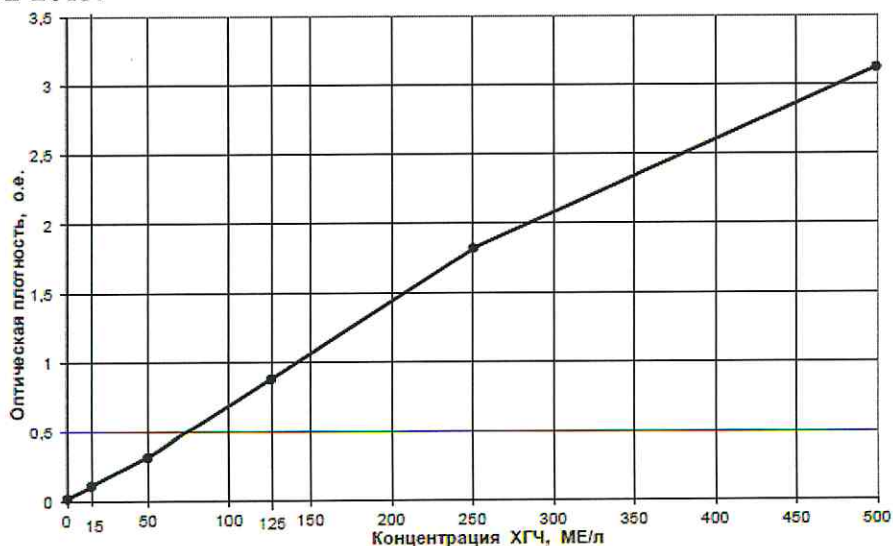


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации ХГЧ в калибровочных образцах.

Таблица 2

Срок беременности, недели	Медиана ХГЧ, МЕ/л	Концентрация ХГЧ в сыворотке крови, МЕ/л	Рекомендуемое разведение сыворотки
0–1		0–100	Без разведения
1–2		50–300	Без разведения, 1/10
2–3		100–1000	1/10
3–4		500–5000	1/100
4–5		5000–30000	1/100; 1/1000
5–6		20000–100000	1/1000
6–7		50000–200000	1/1000; 1/2000
7–8		50000–220000	1/1000; 1/2000
8–9		35000–140000	1/1000
9–10		32500–130000	1/1000
10–11		30000–120000	1/1000
11–12		27500–110000	1/1000
13–14	46 000	25000–100000	1/1000
15	32 000	16 000–70 000	1/1000
16	30 000		
17	24 000	10 000–50 000	1/1000
18	23 000		
19–20	18 000		
21–24		6000–40000	1/1000
25–40		1000–40000	1/100; 1/1000