«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«21» сентября 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации трофобластического β-1-гликопротеина в сыворотке крови
***(ТБГ-ИФА-БЕСТ)***

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

**1.1.** Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации трофобластического β-1-гликопротеина в сыворотке крови «ТБГ-ИФА-БЕСТ» предназначен для определения концентрации трофобластического β-1-гликопротеина в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** 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 одностадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с использованием поликлональных антител к ТБГ.

В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца и конъюгата, во время инкубации происходит одновременное связывание ТБГ с поликлональными антителами к ТБГ, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок, и конъюгатом поликлональных антител с пероксидазой. Количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации ТБГ в анализируемом образце.

Концентрацию ТБГ в анализируемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания ТБГ в калибровочных образцах.

### 2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов, «ломающихся» по одной лунке) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок поликлональными антителами к ТБГ человека, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества ТБГ – 0; 10; 25; 50; 100; 200 нг/мл, аттестованные относительно рабочего калибратора производителя; концентрации ТБГ 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 инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием ТБГ, аттестованный относительно рабочего калибратора производителя; готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);
- конъюгат поликлональных антител к ТБГ с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (25 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 2 флакона (по 20 мл);
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл);
- планшеты для предварительного разведения исследуемых образцов (12 восьмилуночных стрипов), готовые для использования – 2 шт.;
- наконечники для дозаторов на 2–200 мкл – 16 шт.

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

Принадлежности:
- пленка для заклеивания планшета – 1 шт.;
- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночки для реагентов – 2 шт.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1.** Специфичность. Используемые в наборе реагентов поликлональные антитела обеспечивают высокую специфичность выявления ТБГ. Не обнаружено перекрестной реакции используемых поликлональных антител с РЭА.

**3.2.*** Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определений концентрации ТБГ в контрольном образце, не превышает 8%.

**3.3.*** Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчетной величины концентрации ТБГ при разведении калибровочных образцов, содержащих 200; 100; 50 нг/мл, в 2 раза и 25 нг/мл ТБГ – в 2,5 раза. Процент «линейности» составляет 90–110%.

**3.4.*** Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ТБГ предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца с концентрацией ТБГ 25 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

**3.5.*** Чувствительность. Минимально определяемая концентрация ТБГ, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца $B_0$ (0 нг/мл) плюс 2σ (σ – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения), не превышает 1,0 нг/мл.

**3.6.** Клиническая проверка. Концентрация трофобластического β-1-гликопротеина, измеренная в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч, у 115 у здоровых небеременных женщин в возрасте 20–50 лет, не превышала 10 нг/мл.

В таблице 1 приведены значения ожидаемых концентраций ТБГ у женщин на различных сроках нормально протекающей беременности и соответствующие им рекомендуемые разведения сыворотки перед проведением анализа.

**3.7.** Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации трофобластического β-1-гликопротеина, соответствующие нормальным, у обследуемого контингента людей.

## 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

**4.2.** Стоп-реагент и раствор тетраметилбензидина плюс обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора тетраметилбензидина плюс на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Калибровочные и контрольный образцы содержат натрия мертиолят, проклин 950, фенол. Конъюгат содержит кислоту ортофосфорную, проклин 150. Раствор для разведения сывороток содержит проклин 300.

**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 клинико-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,

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

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

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- спектрофотометр вертикального сканирования, поз-воляющий 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, поз-воляющий производить встряхивание с частотой 400–800 об/мин и температуре 37±1°С;
- промывочное устройство для планшетов;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- дозатор полуавтоматический многоканальный со сменными наконечниками, позволяющий отбирать объемы жидкости от 5 до 350 мкл;
- холодильник бытовой;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная;
- дезинфицирующий раствор.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

**6.1.** Для проведения анализа использовать сыворотку крови.

**6.2.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

**6.3.** Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 3 мес.

Повторное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови не допускается, так как это может привести к получению неправильных результатов.

После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

**6.4.** Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин при температуре от 18 до 25°С.

## 7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

**7.1.** Перед проведением анализа извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты и анализируемые образцы сывороток крови при температуре от 18 до 25°С не менее 30 мин.

При дробном использовании набора после отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°С в течение срока годности набора.

### 7.2. Подготовка планшета с иммобилизованными поликлональными антителами к ТБГ

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

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

*Хранение: при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.*

### 7.3. Приготовление промывочного раствора

Промывочный раствор приготовить разведением концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином в 25 раз. Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

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

*Хранение: при температуре от 2 до 8°С не более одного месяца или при температуре от 18 до 25°С не более 7 дней.*

### 7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов

Калибровочные и контрольный образцы готовы для использования и не требуют дополнительного разведения.

### 7.5. Приготовление рабочего разведения анализируемых образцов сыворотки крови

Готовится в чистых, заранее промаркированных флаконах или в планшетах для предварительного разведения исследуемых образцов за 5–10 мин до начала постановки анализа.

**7.5.1.** Сыворотки крови развести раствором для разведения сывороток (РРС) в соответствии с рекомендуемыми разведениями для данного срока беременности (см. таблицу 1).

Например:

20 мкл исследуемого образца + 180 мкл РРС (раствор А) – разведение в 10 раз;

20 мкл раствора А + 180 мкл РРС (раствор Б) – разведение в 100 раз и т.д.

*Использовать в течение 30 мин после приготовления.*

**7.5.2.** Сыворотки крови больных онкологическими заболеваниями развести раствором для разведения сывороток в 10 раз.

*Использовать в течение 30 мин после приготовления.*

### 7.6. Подготовка конъюгата

*Конъюгат готов для использования.*

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Конъюгат, оставшийся во флаконе или ванночке для реагента после проведения ИФА, необходимо утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным конъюгатом).***

### 7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс (раствора ТМБ плюс)

*Раствор ТМБ плюс готов для использования.*

Исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ плюс. Непосредственно перед внесением и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ плюс в чистый флакон или ванночку для реагента.

Раствор ТМБ плюс, оставшийся во флаконе или ванночке для реагента после проведения ИФА, необходимо утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс).***

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

**7.8.** Стоп-реагент готов для использования.

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

## 8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

**8.1.** Внести в соответствующие лунки планшета с иммобилизованными поликлональными антителами к ТБГ (см п. 7.2) в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, 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 рабочем разведении (см п. 7.5).

*Время внесения образцов не должно превышать 10–15 мин при использовании всех лунок планшета.*

**8.2.** Внести во все лунки по 200 мкл конъюгата (см п. 7.6).

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

**8.3.** Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере с частотой 650 об/мин и температуре 37±1°С.

**8.4.** По окончании инкубации снять пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см п. 7.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 350 мкл промывочного раствора в процессе промывки каждого стрипа. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

**8.5.** Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ плюс (см п. 7.7).

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

**8.6.** Планшет инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере с частотой 650 об/мин и температуре 37±1°С.

**8.7.** 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.

**8.8.** Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования 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.

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

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

**9.1.** Вычислить средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные, контрольный и анализируемые образцы.

**9.2.** Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации ТБГ в калибровочных образцах (нг/мл).

**9.3.** Определить концентрацию ТБГ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Полученную концентрацию ТБГ умножить на фактор разведения.

**9.4.** Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации ТБГ в контрольном образце соответствует диапазону концентраций, указанному на этикетке флакона.

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

Примечание: наличие в образцах сыворотки крови свободного гемоглобина в концентрации до 0,7 г/л; билирубина в концентрации до 14,4 мг/дл; триглицеридов в концентрации до 13,1 г/л и белка в концентрации до 72,7 г/л не оказывало интерферирующего влияния на результаты иммуноферментного определения концентрации ТБГ.

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

## 10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

**10.1.** Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

**10.2.** Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

**10.3.** Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

**10.4.** Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы планшета с иммобилизованными поликлональными антителами к ТБГ хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- калибровочные и контрольный образцы, конъюгат, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8°С не более одного месяца или при температуре от 18 до 25°С не более 7 дней;
- неиспользованные стрипы планшета для предварительного разведения исследуемых образцов хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 30°С в течение всего срока годности.

**10.5.** Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации ТБГ в контрольном образце.

**10.6.** 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 в наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

## 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.

## 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.

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

## 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 обязательно 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: $ОП_0 < ОП_{10} < ОП_{25} < ОП_{50} < ОП_{100} < ОП_{200}$;

– $ОП_{200} \geq 1{,}0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

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

$ОП_0$, $ОП_{10}$, $ОП_{25}$, $ОП_{50}$, $ОП_{100}$ и $ОП_{200}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0, 10, 25, 50, 100 и 200 нг/мл 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 ТБГ (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 ТБГ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести

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

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 ТБГ в образце. Полученную концентрацию ТБГ умножить на фактор разведения (см. п. 7.5).

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

## 4. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ТБГ-ИФА-БЕСТ»

*Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!*

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

**Внести:** по 200 мкл конъюгата.

**Инкубировать:** 60 мин, 37°С, 650 об/мин.

**Промыть:** промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.

**Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ плюс.

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

**Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.

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

**Таблица 2.**

**Расход компонентов**

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

**Таблица 1**

| Срок беременности в неделях | Концентрация ТБГ в сыворотке крови, (нг/мл) | Рабочее разведение сывороток |
|---|---|---|
| 4–6 | 350–5 000 | 1:10–1:100 |
| 6–8 | 4 000–17 000 | 1:100 |
| 9–10 | 8 000–24 000 | 1:100–1:1000 |
| 11–12 | 14 000–35 000 | 1:100–1:1000 |
| 13–14 | 18 000–45 000 | 1:100–1:1000 |
| 15–16 | 24 000–65 000 | 1:1000 |
| 17–18 | 26 000–80 000 | 1:1000 |
| 19–20 | 30 000–85 000 | 1:1000 |
| 21–22 | 35 000–95 000 | 1:1000 |
| 23–24 | 40 000–100 000 | 1:1000 |
| 25–26 | 55 000–160 000 | 1:1000 |

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

| | | |
|---|---|---|
| 27–28 | 80 000–200 000 | 1:1000 |
| 29–30 | 95 000–250 000 | 1:1000–1:10000 |
| 31–34 | 120 000–350 000 | 1:1000–1:10000 |
| 35–40 | 150 000–400 000 | 1:1000–1:10000 |

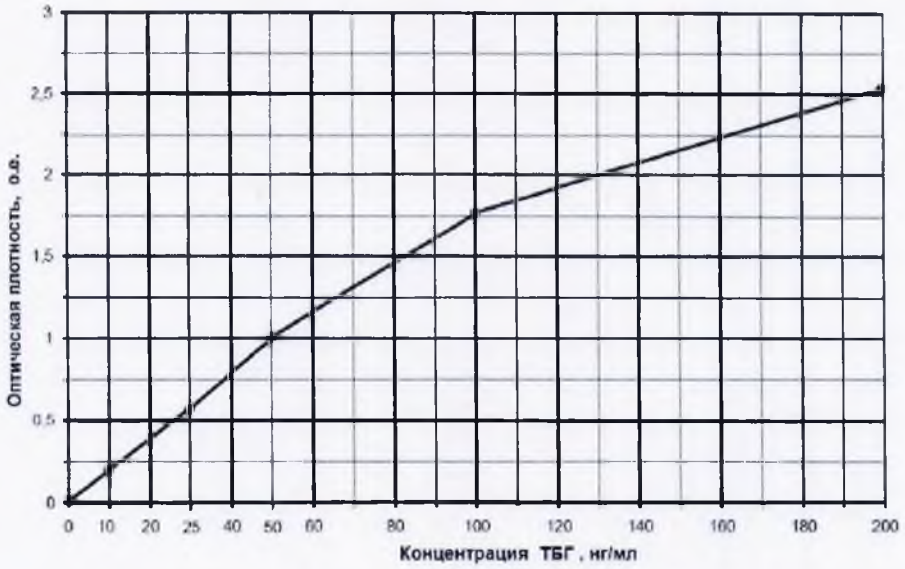



*Рис.* Пример зависимости оптической плотности от концентрации ТБГ в калибровочных образцах.

## Графические символы

| | | | |
|---|---|---|---|
| | Изготовитель | | Дата изготовления |
| LOT | Код партии | | Обратитесь к инструкции по применению |
| REF | Номер по каталогу | IVD | Медицинское изделие для диагностики *in vitro* |
| | Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению. | | Использовать до.... |
| $\Sigma_n$ | Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов | | Температурный диапазон |
| | Не стерильно | | Не допускать воздействия солнечного света |

**По вопросам, касающимся качества набора**
**«ТБГ-ИФА-БЕСТ»,**
следует обращаться в АО «Вектор-Бест»
по адресу:

630559, Новосибирская область,
р.п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, тел. (383) 227-75-41.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

**Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-75-41.**

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