



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»

Полынцев Д.Г.

«30» 11 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Медицинского изделия для диагностики in vitro
Набора реагентов с принадлежностями для количественного иммуноферментного определения лютеинизирующего гормона в сыворотке крови человека «ГонадотропинИФА-ЛГ»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

Повышенные уровни ЛГ наблюдаются у пациентов с различными формами гипогонадизма (первичная недостаточность яичников и семенников, поликистоз яичников, менопауза и пр.), а также при почечной недостаточности и циррозе.

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

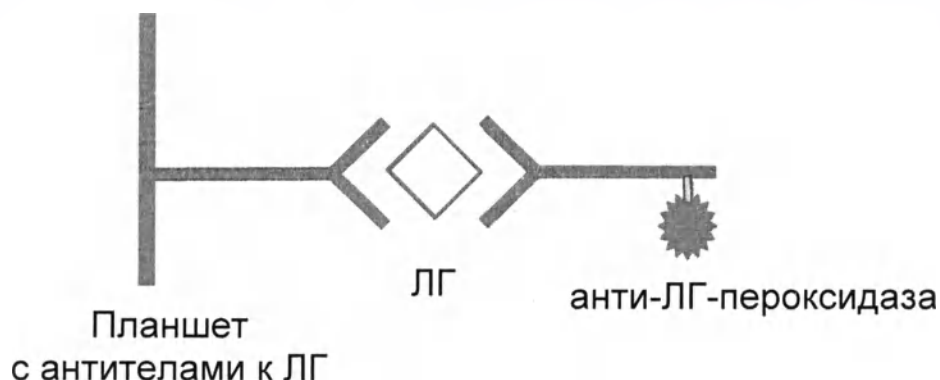
Кроме того, количественное определение уровня ЛГ в сыворотке крови имеет диагностическое значение при определении менопаузы, точного времени овуляции и мониторинге эндокринной терапии.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

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

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

**Рисунок 1. Схема анализа**

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

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

2.2. Состав набора

Набор «ГонадотропинИФА-ЛГ» выпускается в двух комплектациях¹:

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) 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 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 ЛГ, маркирован «Стрипы с моноклональными антителами к ЛГ» — 1 упаковка;
- калибровочные пробы (КП), аттестованные по Второму международному референсному препарату ЛГ человека WHO 80/552, содержащие известные количества ЛГ. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калиб-

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

ровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций ЛГ в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов и в паспорте набора реагентов - 6 или 8* флаконов (лиофилизированные препараты) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- контрольная сыворотка с известным содержанием ЛГ, маркирована «Контрольная сыворотка» — 1 флакон или 2 флакона* (лиофилизированный препарат) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

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

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

Принадлежности:

- пакет закрывающийся полиэтиленовый (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена-1 шт.);
- одноразовая ванночка – 2 шт.,
- одноразовый наконечник— 16 шт.;
- Буфер Р (20X) для автоматических промывочных устройств (фирма ООО «Компания Алкор Био», Россия, кат.№ PH10-04) — 1 флакон (14мл)
- Буфер Р (20X) для автоматических промывочных устройств (фирма ООО «Компания Алкор Био», Россия, кат.№ PH10-03) — 1 флакон (50 мл);
- Буфер Р (20X) для автоматических промывочных устройств (фирма ООО «Компания Алкор Био», Россия, кат.№ PH10-02) — 1 флакон (250 мл);
- Буфер Р (20X) для автоматических промывочных устройств - 1 флакон (фирма ООО «Компания Алкор Био», Россия, кат.№ PH10-01) — 1 флакон (500 мл);
- Буфер Р (20X) для автоматических промывочных устройств - 1 флакон (фирма ООО «Компания Алкор Био», Россия, кат.№ PH10-00) — 1 флакон (1000 мл).

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

Таблица 1

Кат. номер	100-05	100-05 А
Название компонента	Комплектация №1	Комплектация №2
Комплект стрипов в рамке	1 шт	1 шт
Комплект калибровочных проб	6 фл (лиофилизированные препараты или жидкости	8 фл (лиофилизированные препараты или жидко-

Кат. номер	100-05	100-05 А
	по 0,5 мл)	сти по 0,5 мл)
Контрольная сыворотка	1 фл (лиофилизированный препарат)	2 фл (лиофилизированные препараты)
Конъюгат Е	1 фл - 14 мл	1 фл -14 мл
Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок	2 фл по 14 мл	1 фл - 50 мл
Раствор ТМБ	1 фл - 14 мл	1 фл - 14 мл
Стоп-реагент	1 фл - 14 мл	2 фл по 19 мл

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

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

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

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

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

3.7. Диапазон ожидаемых значений. Содержание ЛГ измеряли в сыворотке крови взятой с 9 до 11 часов у 40 здоровых мужчин в возрасте 21–39 лет, 120 здоровых женщин в возрасте 19–35 лет в различных фазах менструального цикла и 15 женщин в возрасте 49–65 лет в постменопаузе. Средняя концентрация ЛГ у мужчин составила 3,9 мМЕ/мл (0,8–8,4 мМЕ/мл). У женщин в фолликулиновой фазе цикла — 4,2 мМЕ/мл (1,1–8,7 мМЕ/мл), в овуляторном пике — 32,0 мМЕ/мл (13,2–72 мМЕ/мл), в лютеиновой фазе цикла — 5,3 мМЕ/мл (0,9–14,4 мМЕ/мл), в постменопаузе — 39,3 мМЕ/мл (18,6–72 мМЕ/мл).

Диапазон ожидаемых значений зависит от многих факторов: специфичности метода, особенностей исследуемой популяции, точности метода в конкретной лаборатории. По этой причине каждой лаборатории рекомендуется использовать предоставленные изготовителем значения только до тех пор, пока специалистами лаборатории не будут определены диапазоны ожидаемых значений, характерных для конкретной популяции в месте расположения лаборатории.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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

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

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

4.6. Стоп-реагент представляет собой 3,59% раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

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

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

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

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

4.11. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в 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 Сан-ПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицин-

скими отходами».

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

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

4.15. Во время процедуры ручной промывки планшета содержимое лунок необходимо 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 длинах волн 450 нм и 405 нм²;
- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 400–800 об/мин при температуре +37° С²;
- автоматическое промывочное устройство (вошер) для иммунологических планшетов²;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными одноразовыми наконечниками³ с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; 20–200 мкл; 100–1000 мкл; 1000–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными одноразовыми наконечниками³, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 50-500 мл;
- стакан стеклянный подходящего объема;
- вода дистиллированная или очищенная деионизованная⁴;

²При 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.

³Повторное использование наконечников не допускается. При внесении каждого образца необходимо использовать новый наконечник.

⁴В соответствии с ГОСТ 6709-72 «Вода дистиллированная. Технические условия» необходимо периодически контролировать качество воды, используемой для приготовления растворов.

- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- контейнер для дезинфекции;
- секундомер;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.

Дополнительно для проведения анализа в термостате:

Термостат, поддерживающий температуру от 35 до 39°C

Дополнительно для проведения анализа на анализаторе «Alisei»:

- автоматический иммуноферментный анализатор «Alisei»⁵;
- многоцелевые полипропиленовые пробирки⁶ 12x75 вместимостью 5 мл;
- концентрированный водный раствор Триала, 5000-кратный концентрат, маркирован «Триал»⁶.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

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

6.3. Образцы сыворотки крови разрешается хранить при температуре +2...8°C не более 2-х суток; при необходимости более длительного хранения (до 3-х месяцев) рекомендуется алиquotировать образец и хранить в замороженном виде при температуре -20°C 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°C) не менее 30 минут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

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

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

1.1.1. Контроль растворения лиофилизированных калибровочных проб и контрольной сыворотки проводится визуально, для измерения времени используется секундомер. По

истечении 20 минут от начала внесения дистиллированной воды приготовленные растворы анализируются на однородность, в т.ч. наличие хлопьев, кристаллов и т.п. Контроль растворения пройден, если дополнительные включения отсутствуют и растворы остаются однородными.

1.1.2. Конъюгат Е готов к использованию.

1.1.3. 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.

1.1.4. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию.

1.1.5. Стоп-реагент готов к использованию.

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

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

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

1.1.9. Ручная постановка

На странице 13 приведена схема проведения анализа при ручной постановке.

1.1.1.1. 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.

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

1.1.1.3. 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.

⁵ 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.

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

1.2. Постановка анализа

1.2.1.1. Инкубировать стрипы в течение 60 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре +37°C со скоростью 500–800 об/мин (или в течение 120 минут в термостате при температуре +37°C без шейкирования).

1.2.1.2. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов и промыть лунки пять раз. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по п. 7.1.4., встряхнуть рамку на шейкере в течение 5–10 секунд с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства.

1.2.1.3. Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ и инкубировать в темноте при комнатной температуре (+18...25 °C) без шейкирования в течение 15-30 минут в зависимости от степени развития окраски или в темноте в течение 10 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре +37 °C со скоростью 500-800 об/мин.

1.2.1.4. 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.

1.2.1.5. 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.*

1.2.2. Постановка на анализаторе «Alisei»

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

1.2.2.1. 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.

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

1.2.2.3. При каждой постановке рекомендуется определение концентрации ЛГ в контрольной сыворотке.

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

2. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

2.1. 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.

3. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

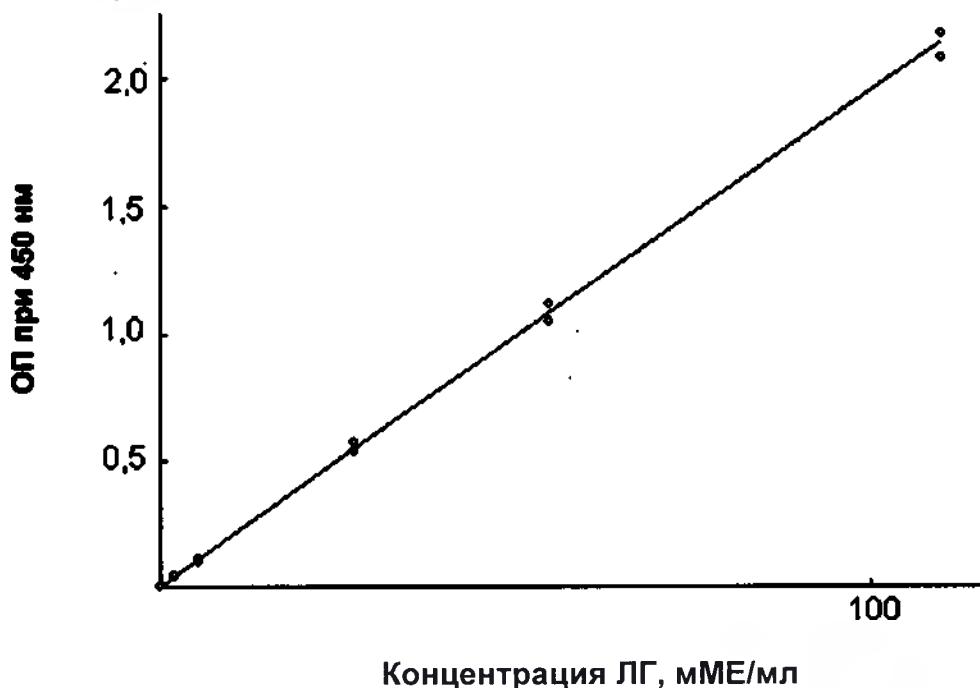


Рисунок 2. Типичный калибровочный график

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 A1 и A2, то необходимо пользоваться формулой:

$$B - B_T$$

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

B_T — среднее арифметическое значение оптической плотности лунок A1 и A2.

3.2. Определить содержание ЛГ в пробах по калибровочному графику.

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

4. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

4.1. Набор «ГонадотропинИФА-ЛГ» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

Срок годности набора — 18 месяцев.

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

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

- стрипы поместить в пакет с этикеткой, затем в пакет закрывающийся из пленки полиэтиленовой и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;

- восстановленные (растворенные) из лиофилизированных препаратов калибровочные пробы и контрольную сыворотку хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более 6 месяцев;

- конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более 6 месяцев;

- стоп-реагент, концентрированные водно-солевой раствор для промывки лунок и раствор Триала после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;

- водно-солевой раствор для промывки лунок и рабочий раствор Триала, подготовленные к использованию, хранить закрытыми при комнатной температуре ($+18...25^{\circ}\text{C}$) не более 5 суток.

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

- для каждого независимого эксперимента необходимо построение нового калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации ЛГ в контрольной сыворотке;

– запрещается возвращать избыток конъюгата, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;

– из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения.

4.5. 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.

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

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

4.8. К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

4.9. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

5. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

5.1. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта при температуре $+2 \dots +8 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Допускается транспортирование набора при температуре до $+25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 15 суток, в том числе при температуре $+37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 1 суток.

5.2. Набор, транспортированный с нарушением температурного режима, применению не подлежит.

6. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

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

6.2. 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».

7. 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.

8. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

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

9. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

	Только для диагностики <i>in vitro</i>		Количество тестов
	Номер по каталогу		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	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.13):

КП — калибровочная проба;

КС — контрольная сыворотка;

ОП — оптическая плотность;

КТ — комнатная температура (+18...25 °C);

ПО — программное обеспечение.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



Варнавичус П.К.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА (только для ручной постановки)

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

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 14 (четырнадцать) листов

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
Д.Г. Полынцев



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 14 ЛИСТОВ

» _____ 2014 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

