

канальцев, увеличивает концентрацию тестостерона в плазме, обеспечивая тем самым процесс созревания сперматозоидов. Наблюдаются сезонные колебания концентрации гормона в крови: летом уровень ФСГ у мужчин выше, чем в другие времена года.

Определение уровня ФСГ в сыворотке крови имеет диагностическое значение при определении менопаузы, точного времени овуляции и мониторинге эндокринной терапии.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах в 48 пробах (40 неизвестных проб, одна проба контрольной сыворотки, шесть стандартных калибровочных проб и одна проба для определения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора) при одновременном использовании всех стрипов планшета.

В случае дробного применения набора необходимо обязательное использование всех стандартных калибровочных проб, набор может быть использован в течение месяца после вскрытия реагентов набора.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на «сэндвич» - варианте твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы моноклональные антитела с различной эпитопной специфичностью к фолликулостимулирующему гормону. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе, второе конъюгировано с пероксидазой хрена. В лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата анти-ФСГ-пероксидаза, во время инкубации одновременно происходит иммобилизация ФСГ, содержащегося в исследуемом образце, и связывание его с конъюгатом. Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству ФСГ в исследуемом образце.

Во время инкубации с ТМБ-Субстратным раствором происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна

образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °C и встряхивании; маркирован «ПР (концентрат х 25)» - 1 фл. (50,0 мл);

- ТМБ-Субстратный раствор; прозрачная бесцветная жидкость; маркирован «ТМБ-Субстратный раствор» - 1 фл. (12,0 мл);

- серная кислота в концентрации 0,2 моль/л; прозрачная бесцветная жидкость; маркирована «Стоп-реагент/0,2М» - 1 фл. (15,0 мл);

- бланк для построения калибровочной кривой – 1 шт;

- инструкция по применению – 1 шт.

Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

-крышка к полистироловым 96-луночным планшетами;

-одноразовые наконечники;

-пластиковая ванночка для жидких реагентов;

-пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

3.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация ФСГ в сыворотке крови человека составляет 0,3 мМЕ/мл.

3.2. Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции компонентов системы с хорионическим гонадотропином, лютеинизирующим и тиреотропным гормонами.

3.3. Коэффициент вариации результатов определения ФСГ в одном и том же образце с использованием набора не превышает 8%.

3.4. Линейность. Зависимость концентрации ФСГ от ОП имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №1–№5. Значение «линейности» должно находиться в пределах от 90 до 110%.

3.5. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» ФСГ – соответствие измеренной концентрации ФСГ предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов калибровочной пробы №3 и контрольной сыворотки. Процент открытия составляет от 90 до 110%.

концентрации ФСГ в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ФСГ в определяемых образцах.

2.2. Состав набора:

- иммуносорбент – планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к ФСГ, маркирован «Иммуносорбент» — 1 шт;

- конъюгат - моноклональные антитела к ФСГ человека, меченные пероксидазой хрена; прозрачная или опалесцирующая розового цвета жидкость; маркирован «Конъюгат» — 1 фл. (12,0 мл);

- стандартные калибровочные пробы, аттестованные по международному стандарту ФСГ 94/632, содержащие известные количества ФСГ; прозрачные или слегка опалесцирующие светло-желтого цвета жидкости; значения концентраций ФСГ в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов и в аналитическом паспорте качества, маркированы:

 - «Калибратор 0» - 1 фл. (2,0 мл);

 - «Калибратор 1» - 1 фл. (0,5 мл);

 - «Калибратор 2» - 1 фл. (0,5 мл);

 - «Калибратор 3» - 1 фл. (0,5 мл);

 - «Калибратор 4» - 1 фл. (0,5 мл);

 - «Калибратор 5» - 1 фл. (0,5 мл).

- контрольная сыворотка с известным содержанием ФСГ; прозрачная или слегка опалесцирующая светло-желтого цвета жидкость; значение концентрации ФСГ в сыворотке указано на этикетке флакона и в аналитическом паспорте качества, маркирована «Контрольная сыворотка» - 1 фл. (0,5 мл);

- промывочный раствор, концентрат; прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо

3.6. Клиническая проверка. Концентрацию ФСГ измеряли в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч, у 200 здоровых лиц в возрасте от 21 до 60 лет в различных фазах менструального цикла.

группа		Разброс концентраций, мМЕ/мл
Женщины	фолликулярная фаза	< 10
	овуляционный пик	5 - 16
	лютеиновая фаза	< 10
	постменопауза	2 - 150
Мужчины		1,4 - 14

3.7. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций ФСГ, соответствующие нормальным значениям для конкретной территории.

4. Меры предосторожности

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2а.

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. Стоп-реагент представляет собой 0,2 М раствор серной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.5. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы и производные крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным

длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

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

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

5. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;

- термостатируемый шейкер, позволяющий производить встряхивание со скоростью от 500 до 800 об/мин при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$;

- термостат для инкубации при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$;

- вошер или устройство для промывания планшетов;

- пипетки полуавтоматические одноканальные с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл с наконечниками;

- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл, с наконечниками;

- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 200 мл, 500 мл;

- стакан стеклянный вместимостью 500 мл;

- вода дистиллированная;

- бумага фильтровальная лабораторная;

- перчатки резиновые или пластиковые;

6. Анализируемые образцы сывороток крови человека

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинаktivированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Недопустимо использование образцов с добавлением азида натрия в качестве консерванта!

Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Отобранные образцы хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 3-х суток. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °С (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Нельзя использовать образцы с бактериальным ростом, выраженным гемолизом и гиперлипидемией. Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин в течение 15 мин при температуре от 4 до 8 °С.

7. Подготовка реагентов для анализа

7.1. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов, а также использовать реагенты по истечении срока их годности!

Перед использованием все реагенты набора выдержать 30 мин при комнатной температуре (от 18 до 24 °С).

7.2. Иммуносорбент. **Внимание:** во избежание конденсации влаги внутри лунок необходимо выдержать иммуносорбент при комнатной температуре (от 18 до 24 °С) в закрытом пакете не менее 30 минут!

Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество стрипов, вставить стрипы в рамку.

7.3. ПР - рабочий промывочный раствор. Содержимое флакона с концентратом ПР тщательно перемешать.

Для приготовления рабочего ПР необходимое количество концентрата ПР развести дистиллированной водой в 25 раз. Полученный раствор тщательно перемешать.

7.4. Конъюгат – готов к применению.

7.5. Стандартные калибровочные пробы - готовы к применению.

7.6. Контрольная сыворотка, готова к применению.

7.7. ТМБ-Субстратный раствор - готов к применению.

концентрации ФСГ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

11. Условия хранения и эксплуатации набора

11.1. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности. Срок годности набора – 13 месяцев.

11.2. Транспортирование набора реагентов проводить при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 10 суток.

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

- Иммуносорбент – пакет с неиспользованными стрипами и силикагелем тщательно герметизировать. После первого вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 1 месяца при хранении при температуре от 2 до 8 °С.

- ПР (концентрат х 25) - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ПР (концентрат х 25) хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С;

- Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить не более 3-х суток при температуре от 2 до 8 °С.

- Конъюгат – после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным конъюгат хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении месяца при температуре от 2 °С до 8 °С.

- Стандартные калибровочные пробы - после вскрытия флакона оставшиеся неиспользованными калибровочные пробы хранить во флаконах, плотно закрытых винтовыми крышками на протяжении месяца при температуре от 2 °С до 8 °С.

- Контрольная сыворотка - после вскрытия флаконов оставшуюся неиспользованной контрольную сыворотку хранить во флаконе, плотно

7.8. Стоп-реагент – готов к применению.

8. Проведение анализа.

8.1. Стандартные калибровочные пробы и контрольную сыворотку рекомендуется вносить по следующей схеме: в лунки иммуносорбента А-1, А-2 дозатором пипеточным внести по 25 мкл «Калибратора 0», в лунки В-1, В-2 - по 25 мкл «Калибратора 1», в лунки С-1, С-2 - по 25 мкл «Калибратора 2», в лунки D-1, D-2 – по 25 мкл «Калибратора 3», в лунки Е-1, Е-2 - по 25 мкл «Калибратора 4», в лунки F-1, F-2 - по 25 мкл «Калибратора 5», в лунки G1 и G2 – по 25 мкл контрольной сыворотки. Лунки H1 и H2 оставить для измерения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора.

В остальные лунки в двух повторах внести по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови.

Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 10 мин!

8.2. Во все лунки, кроме H1-H2, внести дозатором по 100 мкл конъюгата, стрипы планшета закрыть крышкой и инкубировать 60 мин при температуре $(37,0 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ во влажной камере в термостате или на шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин в течение 30 мин при температуре $(37,0 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$.

Для создания влажной камеры планшет закрыть крышкой, на которую положить смоченную водой фильтровальную бумагу, планшет поместить в полиэтиленовый пакет, после чего края пакета завернуть в низ.

8.3. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала, иммуносорбент промыть 5 раз рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 300 мкл в лунку) и удаляя промывочный раствор с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. Не допускать остатка жидкости в лунках планшета.

8.4. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора, закрыть крышкой и выдержать в течение от 20 до 30 мин в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

8.5. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реагента, встряхнуть стрипы на шейкере в течение от 10 до 15 секунд и провести учет результатов.

9. Регистрация результатов

Регистрацию результатов проводить спектрофотометрически при длине волны: 450 нм с настройкой прибора по «воздуху».

Желательно использовать программу спектрофотометра, позволяющую вычитать величину оптической плотности (ОП) в лунках с «Калибратором 0» (A1-A2) из значений ОП всех остальных лунок, если фотометр не позволяет вычитать величину ОП лунок A1-A2, то для расчетов концентраций следует использовать величину разности ОП образца – ОП A1-A2, где ОП образца – среднее значение ОП в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы, ОП A1-A2 – среднее значение ОП лунок A1-A2.

10. Учет результатов

Реакцию следует учитывать, если среднее значение ОП в лунках с контролем субстрата (H1-H2) - не более 0,1.

Необходимо построить калибровочный график по средним величинам ОП «Калибратора 0»; «Калибратора 1»; «Калибратора 2»; «Калибратора 3»; «Калибратора 4»; «Калибратора 5». На бланке для построения калибровочной кривой по оси абсцисс X откладывают соответствующие значения концентрации ФСГ, выраженной в мМЕ/мл, по оси ординат Y откладывают средние значения ОП стандартных калибровочных проб. По полученным точкам строят калибровочную кривую.

Контрольная сыворотка служит для проверки точности и достоверности результатов. Полученные величины концентраций ФСГ в образцах считать достоверными, если вычисленное по калибровочному графику значение

закрытом винтовой крышкой, на протяжении месяца при температуре от 2 до 8 °С.

- ТМБ-Субстратный раствор - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ТМБ-Субстратный раствор хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, в течении месяца при температуре от 2 до 8 °С.

- Стоп-реагент – после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным Стоп-реагент хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

11.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

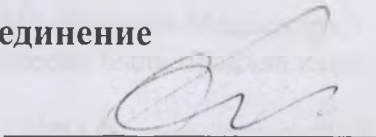
Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12

Директор ООО

«Научно-производственное объединение

«Диагностические системы»

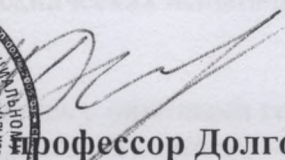
по производству

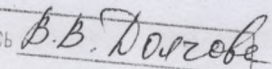
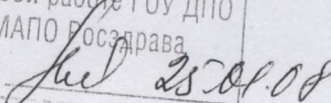
 Г. А. Полянская

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГОУ ДПО
«РМАПО Росздрава»



 Профессор Долгов В.В.
200 г.

Подпись 
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись:  25.04.08



Прошито, пронумеровано
скреплено печатью 11 лп
Нач.отд. ЛиР «ДС» Гейне

Л.А. Гейне

