

«УТВЕРЖДЕН»

Генеральный директор
ООО «Медико-Диагностическая
Лаборатория»



Чиркова Е.Ю.

2011 г

**ИНСТРУКЦИЯ по применению
ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

**Наборы реагентов иммуноферментных для гормональных и
иммунологических исследований in vitro**

Соответствуют требованиям национальных и международных стандартов
ГОСТ Р 51088-97

2011

Анти-ТГ

Прямой иммуноферментный анализ Анти-ТГ в сыворотке и плазме.

REF

DKO010



LOT

Смотрите внешнюю этикетку

8°C

2°C 

 $\Sigma = 96$ тестов

НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментный колориметрический метод для количественного определения концентрации Анти-ТГ в сыворотке или плазме.

Принцип

Принцип действия основан на одновременном связывании человеческого Анти-ТГ с видами двумя моноклональных антител, одни прикреплены к поверхности микропланшетов, другие находятся в составе конъюгата с пероксидазой хрена.

После инкубации производят разделение: фракцию, связавшуюся с антителами, отделяют от несвязавшегося антигена промыванием, затем добавляется ТМБ-раствор.

После того, как пройдет время, необходимое для достижения максимальной интенсивности окраски раствора, ферментная реакция останавливается и измеряется величина абсорбции.

Концентрация Анти-ТГ в образце определяется по калибровочной кривой (интенсивность окраски раствора обратно пропорциональна концентрации Анти-ТГ в образце.)

2. РЕАГЕНТЫ, МАТЕРИАЛЫ И ИНСТРУМЕНТАРИЙ.

2.1 Реагенты и материалы, вошедшие в состав набора.

СТАНДАРТЫ (калибровочные сыворотки)

STD ₀ (1 фл.)	1 mL	0 мМЕ/мл
STD ₁ (1 фл.)	1 mL	5 мМЕ/мл
STD ₂ (1 фл.)	1 mL	12 мМЕ/мл
STD ₃ (1 фл.)	1 mL	40 мМЕ/мл
STD ₄ (1 фл.)	1 mL	100 мМЕ/мл

1. Инкубационный буфер (1 фл.) – 30 мл
Фосфатный буфер 50 мМ рН 7.4

2. Конъюгат (1 флакон) 0,3 мл

3. Микропланшет с сорбированными антителами Анти-ТГ

4. ТМБ-субстрат (1 фл.) 12 мл
H₂O₂-ТМБ 0.25г/л (избегать контакта с кожей)

5. Стоп-реагент (1 фл.) 12 мл
Серная кислота 0.15 М (избегать контакта с кожей)

2.2 Примечания

Храните реагенты при 2 – 8°C.

Открывайте упаковку с микропланшетом только при комнатной температуре и закрывайте ее сразу же после использования.

Не помещайте клейкие листы на неиспользованные стрипы.

2.3 Не прилагающиеся к набору необходимые реагенты.

Дистиллированная вода.

2.4 Необходимое оборудование

Автоматический диспенсер

Спектрофотометр для микропланшетов

2.5 Приготовление реагентов

Разведение конъюгата (готовьте непосредственно перед использованием)

Добавьте 10 мкл р-ра конъюгата (реагента 2) к 1,0 мл инкубационного буфера (реагент 1).

Аккуратно перемешайте.

3. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

3.1 Сбор образцов

Может использоваться как плазма, так и сыворотка крови пациентов.

Образцы могут храниться при 2 – 8°C не более двух дней. Для длительного хранения они должны быть заморожены (при не более –20°C). Избегайте повторного замораживания.

3.2 Меры предосторожности:

-Реагент содержит Proclin 300^R как консервант.

-Не используйте образцы с гемолизом.

-Подготовка и распределение реагентов должны производиться с максимальной точностью.

-Этот метод позволяет производить определение концентрации Анти-ТГ от 1,0 до 100,0 мМЕ/мл.

Образцы с концентрацией больше 100 мМЕ/мл следует развести Реагентом 1 (инкубационным буфером) в соотношении 1:1.

4. ВЫПОЛНЕНИЕ МЕТОДИКИ

Внимательно прочтите инструкцию перед выполнением анализа, следуйте ей как можно точнее.

Поскольку необходимо выполнять исследование образцов в дубликатах, определите по две лунки на каждую из пяти точек стандартной кривой (S_0-S_4) и для каждого образца, а так же одну для бланка.

Внесите:

	Стандарт	Образец	Бланк
Образец	---	25 µl	---
Стандарты S_0-S_4	25 µl	---	---
Разведенный конъюгат	100 µl	100 µl	---

Накройте лунки фольгой, прилагающейся к набору, и инкубируйте при 37°C в течение 30 мин.

Удалите содержимое каждой лунки, промойте их дважды с помощью 200 µL дистиллированной воды. Удалите остатки жидкости в лунках с помощью фильтровальной бумаги.

ВНИМАНИЕ: промывание планшета является самым важным этапом выполнения анализа, от качества его проведения зависит качество получаемых результатов!

Внесите:

	Стандарт	Образец	Бланк
Хромоген (ТМБ)	100µl	100µl	100µl

Инкубируйте при комнатной температуре (20-25°C), в темноте, в течение ровно 10 минут.

Внесите:

	Стандарт	Образец	Бланк
Стоп-реагент	100µl	100µl	100µl

Измерьте абсорбцию при 450 нм против бланка

5. ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите среднюю величину абсорбции (значение оптической плотности) для каждой точки стандартной кривой и для каждого образца.
2. Отнимите значение абсорбции нулевого стандарта от значений абсорбции стандартов и образцов.
3. Постройте калибровочную кривую на миллиметровой бумаге, отмечая значения степеней поглощения стандартов напротив соответствующих концентраций Анти-ТГ.
4. Выразите концентрации Анти-ТГ в контроле и в образцах.

6 ОТНОСИТЕЛЬНОЕ КОЛИЧЕСТВО Анти-ТГ

Каждая лаборатория должна установить свои нормы в зависимости от результатов обследования популяции своих пациентов.

Концентрации Анти-ТГ в плазме или сыворотке должны входить в следующие интервалы

Образец	мМЕ/мл
Мужчины	2.0 – 14.0
Женщины:	
Фолликулярная фаза	2.0 – 10.0
Овуляторная фаза	6.0 – 24.0
Фаза лютеоцитов (желтого тела)	1.5 – 8.0
Менопауза	17.0 – 95.0
Беременные женщины	0.0 – 11.6

Некоторые пациентки из тестируемой группы принимали оральные контрацептивы, что могло сказаться на результатах.

7. ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ

7.1 Специфичность

Кросс-реактивность характеризуется следующими величинами:

ФСГ	100.0 %
ЛГ	< 0.2 %
ХГЧ	< 0.1 %
ТТГ	< 0.1 %

7.2 Чувствительность

Минимальная концентрация Анти-ТГ, которая может быть определена данным способом, приблизительно равна 1.0 мМЕ/мл.

Всего прошнуровано и скреплено печатью

4 (284/е) листов



Генеральный директор
Чиркова Е.Ю.