



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю. Борисов
2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная для количественного определения
свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина человека
в сыворотке крови человека»
"ИФА-свободная β -ХГЧ"

Регистрационное удостоверение №РЗН 2018/7272 от 13.06.2018 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина человека в сыворотке крови человека» "ИФА-свободная β -ХГЧ" предназначен для количественного определения свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ) в сыворотке крови человека с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики invitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для пренатальной диагностики беременных I триместра с целью выявления наличия возможных врождённых заболеваний плода; для диагностики злокачественных новообразований и трофобластической болезни; для мониторинга терапии ряда герминогенных опухолей.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого аналита, сведения о его научной обоснованности

Бета-субъединица хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ) – одна из двух субъединиц ХГЧ, отличающая его от иных гликопротеиновых (лютеинизирующего, фолликулостимулирующего, тиреотропного) гормонов.

Молекула ХГЧ и ее свободные альфа- и бета-субъединицы секретируются клетками трофобласта в ходе его нормального развития и при трофобластических заболеваниях, клетками опухолей различного происхождения, а также в небольших количествах гипофизом.

В кровотоке бета-субъединица присутствует в качестве одного из продуктов деградации ХГЧ, либо вследствие не состоявшейся ассоциации субъединиц в гетеродимер. При беременности концентрация свободной бета-субъединицы ХГЧ в сыворотке крови постепенно увеличивается к десятой неделе, затем начинает снижаться.

Измерение концентрации свободной β -ХГЧ вместе с ассоциированным с беременностью белком плазмы А (РАРР-А), ультразвуковое измерение толщины воротникового пространства, оценка возрастного фактора риска и анамнеза беременной позволяют осуществлять пренатальный скрининг синдрома Дауна и иных врождённых заболеваний плода в первом триместре беременности.

Количественное определение свободной бета-субъединицы применимо в диагностике трофобластической болезни и ряда злокачественных новообразований.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	моноклональные антитела к свободной β -ХГЧ, сорбированные в лунках стрипов 96-луночного разборного полистиролового планшета для иммунологических реакций с плоским дном.	12 стрипов
<i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)</i>		
Калибровочные пробы (КП 1-6)	буферные растворы ¹ , содержащие известные концентрации свободной β -ХГЧ (ориентировочные значения концентрации свободной β -ХГЧ: в КП1 – 0 нг/мл, в КП2 – 7,5 нг/мл; в КП3 – 25 нг/мл; в КП4 – 50 нг/мл; в КП5 – 100 нг/мл; в КП6 – 200 нг/мл); прозрачные жидкости красного цвета ¹ (точные значения концентраций указываются на этикетках флаконов для каждой серии набора)	КП1 – 1 флакон 1,0 мл КП2 – 1 флакон 0,5 мл КП3 – 1 флакон 0,5 мл КП4 – 1 флакон 0,5 мл. КП5 – 1 флакон 0,5 мл КП6 – 1 флакон 0,5 мл
Контрольный положительный образец (К+)	сыворотка крови человека, содержащая свободную β -ХГЧ в известном диапазоне концентраций (указывается на этикетке флакона для каждой серии набора) ¹ ; прозрачная жидкость красного цвета	1 флакон 0,5 мл
Конъюгат	мышинные моноклональные антитела к β -ХГЧ, меченные пероксидазой хрена; суспензия синего цвета.	1 флакон 15,0 мл
Раствор для разведения калибровочных и исследуемых проб (РР)	буферный раствор; прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон 25,0 мл
Концентрат отмывающего буферного раствора [ОБР-Т(х40)]- 40-кратный концентрат буферного раствора	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	1 флакон 25,0 мл
Раствор индикаторный (РИ)	субстратный раствор, содержащий тетраметилбензидин (ТМБ) и перекись водорода; прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон 15,0 мл
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон 15,0 мл
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.

Примечания.

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.
2. Допускается использование неспецифических реагентов из разных серий.
3. К+ не содержит HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2.
4. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор укомплектован принадлежностями:

- вспомогательными пластиковыми емкостями – 4 шт.
- клейкой пленкой для планшетов – 4 шт.

¹ аттестованны относительно значений международного стандарта ВОЗ (NIBSC code: 75/551)

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению и бланк калибровочного графика.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации позволяет одномоментное дублированное исследование 48 образцов, включая калибровочные и контрольные (на каждый образец используется 2 лунки, при этом на калибровочные и контрольные образцы используется 14 лунок). Предусмотрена возможность проведения раздельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	2	4	6	8	10	12
Число иссл. обр.	1	2-9	10-17	18-25	26-33	34-41

Функциональное назначение

Скрининг, мониторинг и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Используется «сэндвич»-вариант ИФА с двумя видами моноклональных антител, полученных к разным эпитопам свободной β -ХГЧ. Моноклональные антитела к одному эпитопу нанесены на поверхность лунок иммуносорбента, антитела к другому эпитопу связаны с ферментом (пероксидазой) и входят в состав конъюгата. При внесении в лунки иммуносорбента исследуемого образца сыворотки и раствора для разведения калибровочных и исследуемых проб при наличии в образце свободной β -ХГЧ происходит образование комплекса /антитело иммуносорбента/-свободная β -ХГЧ/. Во время второй инкубации конъюгат связывается с образовавшимся комплексом: /антитело иммуносорбента/-свободная β -ХГЧ/ - антитело конъюгата. Наличие последнего выявляется по цветной реакции с ТМБ, интенсивность окрашивания реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации свободной β -ХГЧ в образце.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Чувствительность (минимальная определяемая концентрация свободной β -ХГЧ) – не более 0,5 нг/мл.

Коэффициент вариации – не более 8 %.

Линейность - 90 -110%.

Точность («открытие») - 90 -110%.

Интерсепт, 20%: 13,0 – 27,8 нг/мл;

50%: 38,6 – 78,1 нг/мл;

80%: 98,5 - 153,6 нг/мл.

Коэффициент регрессии:

для серии 01 от 08.2017 г. составил 0,9548;

для серии 02 от 08.2017г. составил 0,9768.

Коэффициент корреляции составил 0,982736.

Воспроизводимость результатов составила 100%.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 40 мкл.

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого мате-

риала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 минут при 2500-3000 об/мин.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора реагентов – класс 2б (Приказ МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 г), ГОСТ 31508.

Контрольный положительный образец (К+) содержит проклин-300 в концентрации 0,1%, данная концентрация является безопасной. РР содержит натрия мертиолят в конечной концентрации 0,01 %. Данная концентрация является безопасной.

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными. Класс А – эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам (ТБО).

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить 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".

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и способы управления ими представлены отдельным документом (см. Анализ рисков).

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Цилиндр мерный вместимостью 1000 мл.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин, холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Анализатор иммуноферментный автоматический.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочего отмывающего раствора

При выпадении осадка солей в [ОБР-Т(x40)] прогреть его при температуре 37°C до полного растворения осадка.

При постановке на полном планшете с использованием ИФА-анализаторов 25 мл [ОБР-Т(x40)] довести водой очищенной до 1 л.

При дробной "ручной" постановке использовать соотношения объемов [ОБР-Т(х40)] и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1.

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
[ОБР-Т(х40)], мл	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	25
Вода очищенная, мл	до 160	до 240	до 320	до 400	до 480	до 560	до 640	до 720	до 800	до 880	до 1000

Готовый рабочий отмывающий раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 30 суток, при комнатной температуре - не более 15 суток.

Примечание: Все остальные реагенты, кроме отмывающего раствора, готовы к применению.

Проведение анализа

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25°C (пакет с иммуносорбентом выдерживать при указанной температуре **до вскрытия!**). Жидкие реагенты тщательно перемешать. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 мин.

Исследуемые образцы, в которых по предварительным данным или по результатам ранее проведенного анализа была определена концентрация свободной β-ХГЧ, превышающая 200 нг/мл, перед исследованием необходимо развести в КП1 в соотношении 1:2, 1:4 или 1:10 для того, чтобы концентрация свободной β-ХГЧ попала в определяемый диапазон 0,5 нг/мл – 200 нг/мл.

Схема разведения исследуемых образцов:

разведение №1 (в 2 раза – 1:2): 60 мкл КП1 + 60 мкл образца;

разведение №2 (в 4 раза – 1:4): 50 мкл КП1 + 50 мкл разведения №1;

разведение №3 (в 10 раз – 1:10): 40 мкл КП1 + 10 мкл разведения №1;

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

Таблица 2. Рекомендуемая схема внесения образцов при использовании 12 стрипов

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	КП1	КП1	ИО2	ИО2	ИО10	ИО10	ИО18	ИО18	ИО26	ИО26	ИО34	ИО34
B	КП2	КП2	ИО3	ИО3	ИО11	ИО11	ИО19	ИО19	ИО27	ИО27	ИО35	ИО35
C	КП3	КП3	ИО4	ИО4	ИО12	ИО12	ИО20	ИО20	ИО28	ИО28	ИО36	ИО36
D	КП4	КП4	ИО5	ИО5	ИО13	ИО13	ИО21	ИО21	ИО29	ИО29	ИО37	ИО37
E	КП5	КП5	ИО6	ИО6	ИО14	ИО14	ИО22	ИО22	ИО30	ИО30	ИО38	ИО38
F	КП6	КП6	ИО7	ИО7	ИО15	ИО15	ИО23	ИО23	ИО31	ИО31	ИО39	ИО39
G	К+	К+	ИО8	ИО8	ИО16	ИО16	ИО24	ИО24	ИО32	ИО32	ИО40	ИО40
H	ИО1	ИО1	ИО9	ИО9	ИО17	ИО17	ИО25	ИО25	ИО33	ИО33	ИО41	ИО41

1. Внести в лунки планшета по 200 мкл раствора для разведения калибровочных и исследуемых проб (РР).

2. Внести в лунки планшета по 20 мкл калибровочных проб и исследуемых образцов в соответствии со схемой их внесения. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по рамке планшета.

Внимание! Максимальная воспроизводимость результатов обеспечивается соблюдением одного и того же порядка внесения реагентов. Общее время внесения образцов не должно превышать 15 мин. В противном случае калибраторы следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины проб. Если для анализа используется больше одного планшета, калибровку следует выполнять для каждого планшета.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой, инкубировать при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин.

4. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер для сбора жидких отходов и промыть лунки 4 раза отмывающим буферным раствором, заполняя лунки до краев и выдерживая их с водой каждый раз по 10-15 с. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

5. Добавить в каждую лунку по 100 мкл конъюгата. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по рамке планшета.

6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой, инкубировать при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин.

7. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер для сбора жидких отходов и промыть лунки 4 раза отмывающим буферным раствором (как описано п. 4).

8. Внести во все лунки по 100 мкл РИ и выдержать стрипы 15 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25°C.

9. Добавить по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку, соблюдая последовательность и скорость внесения в них РИ и не более чем через 15 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитывать при следующих условиях:

ОП_{450нм} КП6 – более 1,2;

ОП_{450нм} КП1 – менее 0,1.

Различия значений ОП при их повторных измерениях – не более 15%. В противном случае исследование необходимо повторить.

Построить калибровочную кривую методом кусочно-линейной интерполяции по точкам, ординатами которых являются полученные в ИФА средние значения ОП КП, а абсциссами – концентрации свободной β -ХГЧ в этих пробах, указанные на этикетках флаконов (рисунок 1). Определить по данной кривой концентрации свободной β -ХГЧ в K^+ и в исследованных образцах (для разведенных образцов полученную по графику концентрацию свободной β -ХГЧ необходимо умножить на степень разведения образца). При использовании для расчетов концентраций свободной β -ХГЧ компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать подходящий метод аппроксимации (четырёх- или пятифакторные регрессионные модели с преобразованиями осей и др.).

Для автоматизированного расчёта риска врождённых заболеваний плода требуется использование специального программного обеспечения.

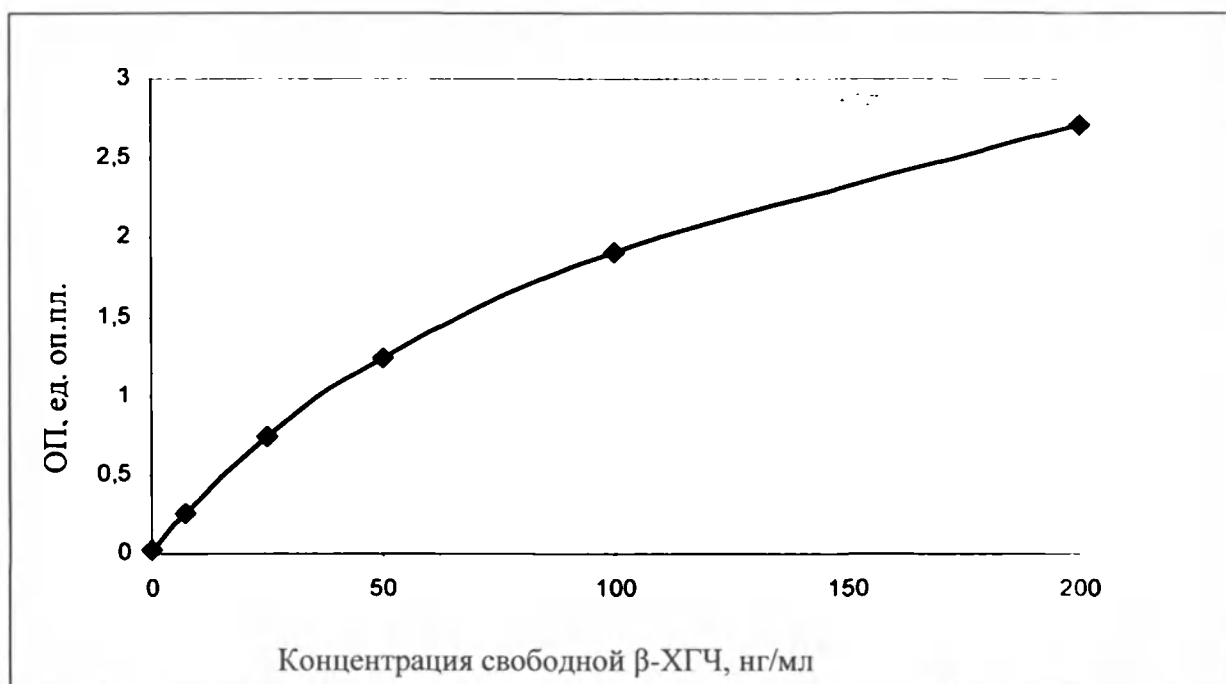


Рисунок 1 – Пример калибровочного графика

Полученные значения концентраций свободной β-ХГЧ в исследуемых образцах учитывать только при условии попадания полученного значения свободной β-ХГЧ в K^+ в диапазон концентраций, указанный на этикетке флакона.

Интерпретация результатов

При измерении свободной β-ХГЧ в пренатальном скрининге полученные значения концентраций необходимо перевести в МоМ (multiplies of median) по формуле:

МоМ = измеренная концентрация (свободной β-ХГЧ) / медиана значений (свободной β-ХГЧ).

Примечание: Каждой лаборатории рекомендуется самостоятельно определять значение медианы свободной β-ХГЧ, поскольку данный показатель зависит от исследуемой популяции, особенностей метода и конкретной лаборатории.

В наборе реагентов «ИФА-свободная β-ХГЧ» значения концентраций калибровочных проб выражены в нг/мл. Для пересчёта концентраций в мМЕ/мл необходимо использовать формулу:

1 мМЕ/мл=1 нг/мл.

Ожидаемые значения свободной β-ХГЧ

Содержание свободной β-ХГЧ в сыворотке крови для здоровых небеременных женщин и мужчин не превышает 2 нг/мл. У женщин в период менопаузы концентрация свободной β-ХГЧ может достигать 10 нг/мл.

Более высокие концентрации свободной β-субъединицы ХГЧ указывают на возможность наличия тестикулярных опухолей у мужчин, хориокарциномы, пузырного заноса, ряда злокачественных новообразований у женщин.

Концентрация свободной β-ХГЧ в сыворотке крови возрастает в период беременности. Характерные значения медиан по срокам беременности (см. примечание) приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Срок беременности, недели	Медиана свободной β-ХГЧ, нг/мл	Референтные интервалы значений свободной β-ХГЧ, нг/мл
9	74,31	23,62 - 177,82
10	63,26	24,67 - 187,39
11	48,49	21,58 - 156,02
12	41,14	15,42 - 129,44
13	38,81	13,82 - 121,60

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Замораживание не допускается.

Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8°C до 3 мес.

Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8°C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25°C в течение 15 суток.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина человека в сыворотке крови человека» "ИФА-свободная β -ХГЧ" соответствует ТУ 21.20.23.110-251-70423725-2017 с изм. № 1, № 2 национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "ИФА-свободная β -ХГЧ" следует обращаться по адресу: 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК, ekolab-sekretar@mail.ru.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С. Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

«24» 12 2020 г.

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА

("ИФА-свободная β -ХГЧ ")

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	по 200 мкл РР во все лунки; в соответствии со схемой постановки по 20 мкл КП1-6, K^+ и исследуемых образцов
Инкубация	30 мин, при комнатной температуре (18-25 ⁰ С)
Промыть	4 раза отмывающим буферным раствором
Внести	по 100 мкл конъюгата
Инкубация	30 мин, при комнатной температуре (18-25 ⁰ С)
Промыть	4 раза отмывающим буферным раствором
Внести	по 100 мкл РИ в каждую лунку
Инкубация	15 мин, 18-25 ⁰ С в защищенном от света месте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

«24» 12 2020 год

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

Пронумеровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
«24» 12 2020 г.

Дата введения	Действителен до	СОП-ПО-15-25	Копия №
Вводится впервые	Версия №1	Вместо:	

1. Назначение.

1.1. Настоящая инструкция определяет порядок приготовления калибровочных проб (КП) для набора реагентов «ИФА-свободная β-ХГЧ» и предназначена для микробиолога и лаборантов НПО «Гормоны и онкомаркеры».

2. Ссылки.

СОП-ТБ-03-20 Инструкция по электробезопасности и охране труда для неэлектротехнического персонала.

СОП-ТБ-19-07 Инструкция по пожарной безопасности на предприятии.

СОП-ВП-11-01 Правила подготовки производственных помещений.

СОП-ВП-11-06 Порядок проведения стерилизующей фильтрации.

СОП-ТБ-15-14 Порядок работы с потенциально инфицированным материалом.

3. Характеристика оборудования.

№ позиции	Наименование оборудования	Код инструкции по эксплуатации, код спецификации	Число единиц
1	Насос перистальтический, «Masterflex» L/S, Cole Parmer Instrument Co, model №7521-00, США.	СОП-ИО-11-19	1
2	Мешалка магнитная, MR 3000, Германия	СОП-ИО-11-22	1
3	Весы, ХЕ-410 инструмент США, точностью 0,001г	СОП-ИО-11-05	1
4	Вошер автоматический PW-40. BioRad, США	СОП-ИО-11-15	1
5	Многоканальный спектрофотометр «SUNRISE», «TECAN», точность 0,05%	СОП-ИО-11-35	1
6	Дозаторный насос «Masterflex», США, 7526-05	СОП-ИО-11-13	1
7	Автоматические пипетки, «Labsystems», Финляндия или «Ленпипет», Санкт-Петербург, объем: 0,5-10 мкл, 5-40 мкл, 40-200 мкл, 200-1000 мкл, 1-5 мл	СОП-ИО-11-23	1
8	pH-метр Hanna HI 2211	СОП-ИО-11-26	1
9	Холодильник «Атлант», Беларусь		1

4. Характеристика сырья и материалов.

№ позиции	Наименование	Спецификация (Страна, фирма-)	Квалификация (Каталожный №)	Внутренний
-----------	--------------	-------------------------------	-----------------------------	------------

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Долж.: Зам. нач. ОПР	Долж.: Начальник ОПР	Долж.: Генеральный директор
ФИО: Никитина А.В.	ФИО: Амелина Е.А.	ФИО: Борисов В.Ю.
Подпись:	Подпись:	Подпись:
Дата: 11.01.17	Дата: 11.01.17	Дата: 11.01.17
	Долж.: Начальник НПО «Гормоны и онкомаркеры»	
	ФИО: Гафаров Р.Р.	
	Подпись:	
	Дата: 11.01.17	
	Долж.: Начальник ООК	
	ФИО: Овинникова С.С.	
	Подпись:	
	Дата: 11.01.17	
	Долж.: Директор производства ДП	
	ФИО: Осинская А.Д.	
	Подпись:	
	Дата: 11.01.17	

Порядок приготовления калибровочных проб для ИФТС "ИФА–свободная β -ХГЧ "			Стр. 2 из 5
Дата введения	СОП-ПО-15-25		Копия №
Вводится впервые	Версия №1	Вместо:	

		производитель)		код
Основное сырье				
1	Раствор для разведения калибровочных проб	ЗАО « ЭКОлаб»	СОП-ПО-15-03	
2	Свободная β -ХГЧ, b-hCG	LEE Biosolutions, USA	кат. № 325-11	
3	Международный Стандарт WHO	NIBSC	кат. № 75/551	
4	ИФТС "ИФА–свободная β -ХГЧ"	ТУ 21.20.23.110-251-70423725-2017		
5	Lyphochek Maternal Serum Control	Bio Rad	кат. № 39150	
6	Дигидрофосфат натрия двухводный	Sigma, Германия	71500-1KG	
7	Гидрофосфат натрия двенадцативодный	Panreac, Испания	кат. № 141678.1211	
8	Азид натрия	Merck, Германия	кат. № 106688	
Вспомогательные материалы				
1	Спирт этиловый 96%	ГОСТ 5962-67		
2	Перекись водорода	ГОСТ 177-77	хч	
3	Марля медицинская	ГОСТ 9412-77		
4	Вата медицинская	ГОСТ 5556-81		
5	Префильтры	«Millipore» или «Владипор»		
6	Фильтры	«Millipore» или «Владипор»	d _{пор} =0,45мкм 0,22мкм	
7	Колбы вместимостью 250 и 500 мл	«Химлаборприбор», Россия		
8	Мерные цилиндры вместимостью 100 мл и 500 мл	«Химлаборприбор», Россия		
10	Бакпечатки однократного применения	ТУ 64-2-279-79		
11	Микропробирка пластиковая с пробкой	Sci/Spec, США	Кат. № B-69200	
12	Флаконы стеклянные или пластиковые емк.10,0-30,0 мл.	«Митра», Беларусь		
13	Крышки навинчивающиеся к ВМ-20	«Митра», Беларусь		
14	Самоклеящиеся этикетки	Lomond, Россия	2100175	
15	Пробирка микроцентрифужная типа «Эппендорф» 0,5 мл	«МиниМед», Россия	арт. 11005501	
16	Пленка Parafilm M®	«Диа М», Россия		

5. Процедура.

5.1. Приготовление раствора для разведения свободной β -ХГЧ.

5.1.1. Взвесить и добавить в сухую колбу объемом 100 мл следующие компоненты:

Наименование компонента	Получаемая концентрация	Масса (в расчете на 100 мл)
Дигидрофосфат натрия двухводный	0,0027 моль/л	0,414 г

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Никитина А.В.	Амелина Е.А.	Борисов В.Ю.
	Гафаров Р.Р.	
	Ишеникова С.С.	
	Осинская А.Д.	

Порядок приготовления калибровочных проб для ИФТС "ИФА–свободная β -ХГЧ "			Стр. 3 из 5
Дата введения	СОП-ИО-15-25		Копия №
Вводится впервые	Версия №1	Вместо:	

Гидрофосфат натрия двенадцативодный	0,0073 моль/л	2,614 г
Азид натрия	0,1%	0,1 г

5.1.2. С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в колбу 90 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут.

5.1.3. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $7,2 \pm 0,1$. При необходимости провести корректировку pH. Полученное значение занести в маршрутную карту.

5.1.4. Раствор перенести из колбы в мерный цилиндр на 100 мл.

5.1.5. Разбавить раствор очищенной водой до конечного объема 100 мл.

5.1.6. Данные о внесенном в раствор для сорбции количестве компонентов внести в маршрутную карту. Колбу с раствором для сорбции маркировать этикеткой с указанием названия раствора, даты приготовления, фамилии приготовившего.

5.1.7. Хранить раствор при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$ в течение 14 суток.

5.2. Приготовление концентрата свободной β -ХГЧ.

5.2.1. Исходя из концентрации свободной β -ХГЧ, указанной в паспорте на антиген свободной β -ХГЧ, приготовить концентрат с содержанием свободной β -ХГЧ 100 мкг/мл, используя раствор для разведения. Оставить флакон при комнатной температуре на 2-3 часа, периодически встряхивая содержимое флакона.

5.2.2. Концентрат разлить порционно в микропробирки типа «Эппендорф» и промаркировать этикеткой с указанием названия, даты приготовления концентрата, фамилии приготовившего.

5.2.3. Данные о количестве компонентов занести в маршрутную карту. Концентрат хранить при -20°C .

5.3. Приготовление калибровочных проб.

5.3.1. Рассчитать необходимое количество концентрата свободной β -ХГЧ и раствора для разведения калибровочных проб (РР), необходимое для того, чтобы получить калибровочные пробы с концентрацией свободной β -ХГЧ: 200 нг/мл (КП₆), 100 нг/мл (КП₅), 50 нг/мл (КП₄), 25 нг/мл (КП₃), 7,5 нг/мл (КП₂), 0 нг/мл (КП₁).

5.3.2. Приготовить калибровочные пробы и оставить на 2-3 часа при комнатной температуре, периодически перемешивая вручную, либо используя магнитную мешалку.

5.3.3. Промаркировать калибровочные пробы этикетками с указанием названия ИФТС, номера и даты приготовления калибровочных проб, фамилии приготовившего.

5.2.3. Данные о количестве компонентов занести в маршрутную карту.

5.4. Контроль в ИФА.

5.4.1. Приготовить несколько (от 3 до 6) разведений международного стандарта WHO, используя его концентрат и раствор для разведения калибровочных проб.

5.4.2. Концентрации свободной β -ХГЧ в полученных калибровочных пробах (п.5.3.) проконтролировать в ИФА в соответствии с инструкцией на ИФТС "ИФА–свободная β -ХГЧ", используя для построения калибровочной кривой международный стандарт.

5.4.3. Оценить соответствие концентраций свободной β -ХГЧ в калибровочных пробах относительно международного стандарта.

5.4.4. Построить калибровочную кривую, используя полученные калибровочные пробы. Оценить определяемые концентрации свободной β -ХГЧ в аттестованном клиническом материале и контрольных материалах Lyphochek Maternal Serum Control.

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Никитина А.В.	Амелина Е.А.	Борисов В.Ю.
	Гафаров Р.Р.	
	Миникова С.С.	
	Осинская А.Д.	

Порядок приготовления калибровочных проб для ИФТС "ИФА-свободная β -ХГЧ"		Стр. 4 из 5
Дата введения	СОП-ПО-15-25	Копия №
Вводится впервые	Версия №1	Вместо:

5.4.5. Оценить степень корреляции значений концентрации свободной β -ХГЧ, полученных с помощью кривых, построенных с использованием калибровочных проб и международного стандарта, с известными концентрациями свободной β -ХГЧ в этих образцах.

5.4.6. В зависимости от полученных результатов внести необходимые корректировки в значения концентраций свободной β -ХГЧ в калибровочных пробах путём повторного разведения проб или калибровки их относительно международного стандарта.

5.4.7. Провести повторный контроль калибровочных проб в ИФА в соответствии с инструкцией на ИФТС "ИФА-свободная β -ХГЧ".

5.4.8. Построить калибровочную кривую, используя полученные калибровочные пробы. Оценить определяемые концентрации свободной β -ХГЧ в аттестованном клиническом материале и контрольных материалах Lyphochek Maternal Serum Control.

5.4.9. Занести данные в маршрутную карту.

5.4.10. Полученные значения концентрации свободной β -ХГЧ в калибровочных пробах указать на этикетках соответствующих флаконов.

5.5. Розлив.

5.5.1. Розлив проводить в асептических условиях. Шланги для насоса должны быть стерильными.

5.5.2. Калибровочные пробы разливают с помощью дозирующего насоса во флаконы. Доза розлива для КП₂ - КП₆ - 0,5 мл, для КП₁ - 1,0 мл.

5.5.3. Точность дозировки контролируется с помощью автоматических пипеток не менее 3 раз в течение розлива. Погрешность розлива не более 20 мкл. Каждый флакон плотно закрутить крышкой и сложить в маркированный контейнер.

5.5.4. Занести данные в маршрутную карту.

5.6. Маркировка.

5.6.1. На флаконы с калибровочными пробами наклеить этикетки:

ЭКОлаб	
«ИФА-свободная β -ХГЧ»	
КП1	
0 нг/мл	
С.	Хранить при 2-8°C
Голен до	1,0мл
для in vitro диагностики	

ЭКОлаб	
«ИФА-свободная β -ХГЧ»	
КП2	
7,5 нг/мл	
С.	Хранить при 2-8°C
Голен до	0,5мл
для in vitro диагностики	

ЭКОлаб	
«ИФА-свободная β -ХГЧ»	
КП3	
25 нг/мл	
С.	Хранить при 2-8°C
Голен до	0,5мл
для in vitro диагностики	

ЭКОлаб	
«ИФА-свободная β -ХГЧ»	
КП4	
50 нг/мл	
С.	Хранить при 2-8°C
Голен до	0,5мл
для in vitro диагностики	

ЭКОлаб	
«ИФА-свободная β -ХГЧ»	
КП5	
100 нг/мл	
С.	Хранить при 2-8°C
Голен до	0,5мл
для in vitro диагностики	

ЭКОлаб	
«ИФА-свободная β -ХГЧ»	
КП6	
200 нг/мл	
С.	Хранить при 2-8°C
Голен до	
для in vitro диагностики	

5.6.2. Примеры этикеток занести в маршрутную карту.

5.7. Хранение.

5.7.1. Хранить калибровочные пробы (КП) при температуре 2-8°C в течение 12 месяцев.

6. Документация

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Никитина А.В.	Амелина Е.А.	Борисов В.Ю.
	Гафаров Р.Р.	
	инникова С.С.	
	Осинская А.Д.	

Порядок приготовления калибровочных проб для ИФТС "ИФА-свободная β -ХГЧ "		Стр. 5 из 5
Дата введения	СОП-ИО-15-25	Копия №
Вводится впервые	Версия №1	Вместо:

6.1. Документирование процесса «Порядок приготовления калибровочных проб (КП) для набора реагентов «ИФА-свободная β -ХГЧ» следует осуществлять в маршрутной карте ЗФ 01-ПО-15-25. Форма маршрутной карты представлена в Приложении №1.

6.2. Документирование процесса калибровки оборудования следует осуществлять в журнале калибровки оборудования.

6.3. Документирование подготовки производственного помещения следует осуществлять в графике уборки помещения.

7. Ответственность

7.1. За несоблюдение требований данной инструкции персонал несет должностную ответственность в установленном порядке.

8. Литература

8.1. СОП-ВП-11-01 «Правила подготовки производственных помещений».

8.2. СОП-ВП-11-07 «Правила подготовки персонала для работы в производственных помещениях».

8.3. СОП-ТБ-11-09 «Инструкция по охране труда с опасными отходами производства».

8.4. СОП-ИО-16-13 «Порядок и правила эксплуатации системы очистки воды Milli-Q Academic».

8.5. СОП-ИО-12-21 «Эксплуатация весов лабораторных Adventurer».

8.6. СОП-ИО-11-26 «Эксплуатация настольного рН-метра Hanna HI 2211».

8.7. СОП-ИО-11-23 «Порядок эксплуатации дозаторов пипеточных с переменным объемом «Ленпипет»».

8.8. СОП-АД-01-04 «Порядок составления и оформления инструкций».

9. Распределение данной инструкции.

Подразделение	Экземпляр	Число
ООК	Оригинал	1
НПО «Гормоны. Онкомаркеры.»	Копия 1	1
ОПР	Копия 2	1

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Никитина А.В.	Амелина Е.А.	Борисов В.Ю.
	Гафаров Р.Р.	
	Инникова С.С.	
	Осинская А.Д.	

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

5 лист 06

Зам. Ген. директора ЗАО "ЭКОлаб"

Гашенко Т.Ю.

04 2021 г.

