

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

«ФСГ–БЕСТ»

Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення фолікулолестимулюючого гормону

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «ФСГ–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення концентрації фолікулолестимулюючого гормону у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу. Набір «ФСГ–БЕСТ» рекомендований для проведення аналізу в дублікатах 40 невідомих, 6 калібрувальних проб, однієї проби контрольної сироватки й однієї проби для визначення оптичної густини розчину тетраметилбензидину (ТМБ) при використанні всіх стрипів одночасно. У випадку дробового застосування необхідна обов'язкова постановка всіх каліброваних проб для кожного окремого аналізу

2. СКЛАД НАБОРУ

Планшет - полістирольний, з іммобілізованими моноклональними антитілами до ФСГ, **1 упаковка.**

Калібрувальні проби (КП): **комплект**

КП№1- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0 мМО/мл ФСГ,

КП№2- 1 флакон, 0,5 мл, містить 2 мМО /мл ФСГ,

КП№3- 1 флакон, 0,5 мл, містить 5 мМО /мл ФСГ,

КП№4- 1 флакон, 0,5 мл, містить 25 мМО /мл ФСГ,

КП№5- 1 флакон, 0,5 мл, містить 50 мМО /мл ФСГ,

КП№6- 1 флакон, 0,5 мл, містить 100 мМО /мл ФСГ,

Кон'югат – анти - ФСГ – пероксидаза,

1 флакон (14 мл)

Промиваючий розчин

1 флакон (14 мл)

ТМБ (Розчин тетраметилбензидина)

1 флакон (14 мл)

СР (Стоп-реагент) **1 флакон** (14 мл)

КС (контрольна сироватка) містить відому кількість ФСГ, діапазон концентрацій зазначений на етикетці флакону. **1 флакон**

3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

3.1. Чутливість. Мінімальна достовірно обумовлена набором концентрація ФСГ в аналізованому зразку не перевищує 0,25 мМО / мл.

3.2. Специфічність. Не виявлено перехресної реакції обох моноклональних антитіл до β - субодиниці ФСГ з хоріонічним гонадотропіном, лютеїнізуючим і тиреотропним гормонами.

3.3. Діапазон очікуваних значень. В нормі у дорослих чоловіків 1,0 – 11,8 мМО/мл, жінки: фолікулінова фаза МЦ 1,8 – 11,4 мМО/мл, овулярна фаза МЦ 4,9 – 20,4 мМО/мл, лютеїнова фаза МЦ 1,1 – 9,5 мМО/мл, постменопауза 31 – 130 мМО/мл.

4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не пікетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

5. ОБЛАДНАННЯ Й МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ:

Спектрофотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5- 3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні, рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ.

6.1. Узяття крові для аналізу слід проводити з використанням стандартних процедур для венозної крові, а зразки сироватки повинні бути звільнені від клітин крові центрифугуванням. Після центрифугування сироватка крові повинна бути перенесена в окрему пробірку.

6.2. Слід уникати використання в аналізі плазми крові, гемолізованої, мутної або гіперліпемічної сироватки. Не допускається використання як консервант азиду натрію.

6.3. Зразки сироватки крові слід використати протягом 24 годин з моменту отримання за умови їх зберігання при +2...8°C. Для більш тривалого зберігання зразки необхідно заморозити при температурі нижче -20°C. Уникати повторного заморожування зразків.

7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

7.1 . Підготовка реагентів

7.1.1 . Стрипи . Перед розкриттям пакет зі стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі (+18 ... 25 ° С) не менше 30 хвилин. Розкрити пакет і переставити на вільну рамку необхідну кількість стрипів . Залишок упакувати у фольгований пакет та зберігати до кінця терміну придатності при +2...8°C.

7.1.2 . Рідкі калібрувальні проби і контрольна сироватка готові до використання.

Для відновлення ліофілізованих калібрувальних проб та контрольної сироватки перед розкриттям флаконів легким постукуванням струсити частинки , які прилипли до стінок флаконів або до кришок . Відкрити флакони і покласти кришки перевернутими на суху поверхню. У кожний флакон з калібрувальною пробю та контрольної сироваткою внести по 0,5 мл дистильованої води і закрити кришками. Витримати флакони протягом 10 хвилин при кімнатній температурі без перемішування. Потім , акуратно нахилиючи і обертаючи флакони , перемішати їх вміст до повного розчинення , уникаючи піноутворення . Протягом наступних 10 хвилин витримати флакони при кімнатній температурі , періодично перемішуючи.

7.1.3 . Кон'югат готовий до використання. Витрата кон'югату на один стрип становить 1,15 мл .

7.1.4. Розчин для промивання. Необхідну кількість промиваючого розчину розвести дистильованою водою в 20 разів.

Наприклад:

5 мл промиваючого + 95 мл дистильованої води.

Ретельно перемішати , уникаючи піноутворення .

7.1.5 . Розчин тетраметілбензідіна (ТМБ) готовий до використання. Витрата ТМБ на один стрип становить 1,15 мл .

7.1.6 . Стоп - реагент готовий до використання. Витрата стоп- реагенту на один стрип становить 1,15 мл .

7.1.7 . Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури (+18 ... 25 ° С) .

7.2 . Постановка аналізу

7.2.1 . Скласти протокол маркування лунок. Лунки промаркувати наступним чином :

A1 , A2 - № 1 - для вимірювання величини оптичної густини розчину ТМБ ;

B1 , B2 - № 2 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 1;

C1 , C2 - № 3 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 2;

D1 , D2 - № 4 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 3;

E1 , E2 - № 5 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 4 ;

F1 , F2 - № 6 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 5;

G1 , G2 - № 7 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 6 ;

H1 , H2 - № 8 - для вимірювання величини оптичної густини контрольної сироватки.

7.2.2 . У всі лунки , крім лунок A1 і A2 , внести по 100 мкл кон'югату .

7.2.3 . Внести у відповідні лунки по 20 мкл калібрувальних проб та контрольної сироватки , в що залишилися лунки - по 20 мкл досліджуваної сироватки крові в дублікатах.

***Примітка:** загальний час внесення калібрувальних проб , контрольної сироватки і досліджуваних сироваток крові не повинен перевищувати 15 хвилин , інакше час інкубації різних зразків буде значно відрізнятися , що призведе до неправильних результатів .*

7.2.4 . Інкубувати стрипи протягом 60 хвилин при струшуванні в термо- шейкері при температурі +37 ° С зі швидкістю 500-800 об / хв . Або 90 хвилин при кімнатній температурі.

7.2.5 . По закінченні інкубації видалити вміст лунок в контейнер з дезінфікуючим розчином (1% розчином гіпохлориту натрію або 6% розчином перекису водню) і промити лунки п'ять разів. При кожній промивці в усі лунки додавати по 300 мкл розчину для промивання , приготованого за п. 7.1.4 , струснути рамку протягом 5-10 секунд з наступним декантуванням . Після останнього декантування ретельно видалити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стрипами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу .

Допускається промивка лунок за допомогою автоматичного промивання пристрою.

7.2.6 . негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ . Інкубувати стрипи в темноті при кімнатній температурі (+18 ... 25 ° С) протягом 15хвилин в залежності від ступеня розвитку забарвлення або 10 хвилин у термо-шейкері при температурі +37 ° С зі швидкістю 500-800 об / хв .

***Примітка:** максимальна оптична густина не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу .*

7.2.7 . Додати в усі лунки з тією ж швидкістю і в тій же послідовності , як і розчин ТМБ , по 100 мкл стоп-реагенту для зупинки ферментної реакції , струшувати на шейкері протягом 1-2 хвилин при кімнатній температурі (+18 ... 25 ° С)

7.2.8 . Якщо неможливо виміряти оптичну густина у лунках планшета безпосередньо після виконання п. 7.2.7 . , то слід мати на увазі , що забарвлення в лунках планшета стабільна не більше 20 хвилин при температурі +18 ... 25 ° С.

8 . РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти на фотометрі вертикального сканування оптичну густина у лунках при довжині хвилі 450 нм.

При реєстрації результатів необхідно віднімати величину оптичної густини в лунках A1 і A2 з значень оптичної

густини всіх інших лунок.

Примітка: середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках А1 і А2 не повинно перевищувати 0,09 од.ОГ.

9 . ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

9.1 . Побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації ФСГ (мМО / мл) в калібрувальних пробах (Малюнок 2). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення осей .

Примітка 1: для побудови калібрувальних графіків рекомендується використовувати Програмне забезпечення « ІФА Майстер».

Примітка 2: для побудови калібрувального графіка на масштабному папері необхідно використовувати дані оптичної густини після вирахування з них середньої величини оптичної густини лунок з ТМБ .

Якщо програма фотометра не дозволяє віднімати величину оптичної густини лунок А1 і А2 , то необхідно користуватися формулою :

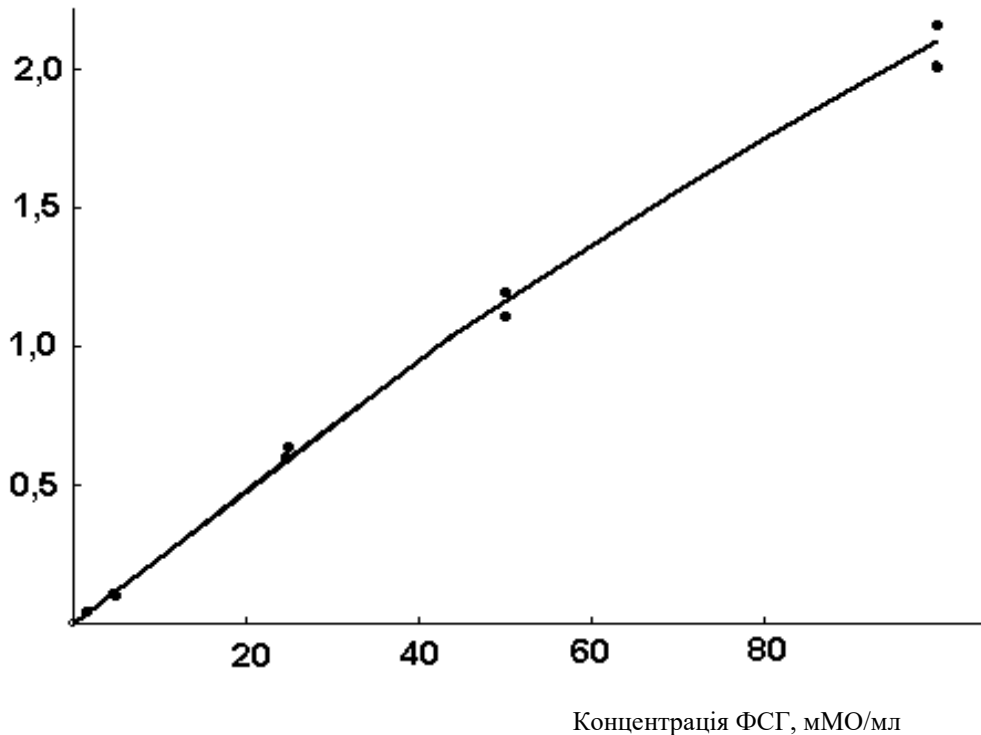
$V - V_t$,

де V - середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках , що містять калібрувальні або досліджувані проби ,

V_t - середнє арифметичне значення оптичної густини лунок А1 і А2.

9.2 . Визначити зміст ФСГ в пробах за калібрувальним графіком.

9.3 . Екстраполяція калібрувального графіка для значень концентрації ФСГ , що перевищують номінал КП № 6 , не допускається. За наявності таких випадків приймати значення концентрації досліджуваного зразка «вище концентрації КП № 6».



Малюнок 2 . Типовий калібрувальний графік

10 . УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

Набори зберігати і транспортувати при +2...8°C. Допускається транспортування при температурі до 25°C не більше 5 діб. Промиваючий розчин підготовлений до використання зберігати не більше 30 діб.

Не допускати заморожування!

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися: в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9, тел./факс: (044) 500-57-11 E-mail: info@bestdiagnostic.com.ua

Виробник залишає за собою право в разі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.