

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного определения
концентрации плазменного белка А,
ассоциированного с беременностью
в сыворотке крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 05.08.2010
Приказом Росздравнадзора № 7690-Пр/10

РАРР-А – ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-4160

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «РАРР-А – ИФА – БЕСТ» предназначен для определения концентрации плазменного белка А ассоциированного с беременностью (РАРР-А, *pregnancy-associated plasma protein A*) в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. РАРР-А – цинк-содержащий металлопротеин, относящийся к семейству металлопротеиназ, молекулярная масса около 800кДа.

У небеременных женщин белок в небольшом количестве синтезируется в тканях эндометрия и яичников, у мужчин – выявляется в эякуляте.

Во время беременности РАРР-А вырабатывается клетками синцитиотрофобласта и экстраворсинного цитотрофобласта и поступает в кровотоки матери.

Начиная с 7 недели гестации (28-ой день после имплантации), концентрация белка быстро нарастает, удваиваясь каждые 3–4 дня в первом триместре. Далее с увеличением срока беременности уровень РАРР-А продолжает расти медленнее. Известно, что РАРР-А модулирует иммунный ответ материнского организма и является одним из факторов, который обеспечивает развитие и функционирование плаценты.

1.3. В комплексе с другими маркерами количественное определение содержания РАРР-А в сыворотке крови может быть использовано для мониторинга беременности с целью выявления угрозы выкидыша, задержки развития плода и другой

патологии, а также для раннего пренатального скрининга хромосомных аномалий. Данный тест позволяет уже на сроках с 10 по 14 неделю оценить риск развития у плода трисомий, в первую очередь синдрома Дауна (трисомия по 21 паре хромосом). При наличии аномалии уровень PAPP-A значительно снижен, далее, после 14 недели, значимость маркера исчезает (концентрация белка при трисомии не отличается от физиологической). Обычно рекомендуется проведение этого исследования в составе так называемого «двойного теста» 1 триместра, который включает в себя два биохимических маркера: св.β-ХГЧ (свободная β-субъединица хорионического гонадотропина) и PAPP-A. Такая комбинация значительно повышает вероятность раннего выявления хромосомной патологии.

1.4. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного, 6 калибровочных образцов и 1 пробы контрольного образца (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением двух типов моноклональных антител к PAPP-A. В лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата моноклональных антител к PAPP-A с пероксидазой, во время инкубации одновременно происходит связывание

РАРР-А с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок, и конъюгатом моноклональных антител с пероксидазой. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски пропорциональна концентрации РАРР-А в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация РАРР-А в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности моноклональными антителами к РАРР-А, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы на основе сыворотки крови человека, аттестованные относительно международного стандарта (фирма NEQAS, Великобритания, IRP 76/610), содержащие известные количества РАРР-А – 0; 250; 1000; 2500; 5000 и 10000 мЕд/л; концентрации РАРР-А в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,3 мл);
- контрольный образец на основе сыворотки крови человека с известным содержанием РАРР-А, готовый для использования – 1 флакон (0,3 мл);

- конъюгат моноклональных антител к РАРР-А с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (25,0 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28,0 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13,0 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;
- трафаретом для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 4 – 200 мкл – 16 шт.;
- планшетом для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Используемые в наборе реагентов моноклональные антитела обеспечивают высокую специфичность выявления РАРР-А.

3.2. Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения содержания РАРР-А в одном и том же образце сыворотки крови с использованием набора «РАРР-А – ИФА – БЕСТ» не превышает 8%.

3.3. Линейность. Отклонение от расчетной величины концентрации РАРР-А при разведе-

нии анализируемых проб сывороткой крови, не содержащей PAPP-A, не превышает 10% в диапазоне концентраций 250–10000 мЕд/л.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» PAPP-A – соответствие измеренной концентрации PAPP-A, предписанной в образце, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца 1000 мЕд/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация PAPP-A не превышает 20 мЕд/л.

3.6. Клиническая проверка. Исследование сывороток крови здоровых мужчин и небеременных женщин с использованием набора реагентов «PAPP-A – ИФА – БЕСТ» показало, что концентрация PAPP-A не превышала 30 мЕд/л.

В таблице 1 приведены значения медиан концентраций PAPP-A, полученные в результате анализа сывороток крови женщин Новосибирской области в I триместре физиологической беременности.

3.7. Значения медиан могут отличаться в разных регионах ввиду расовых и популяционных особенностей, поэтому приведенные в таблице значения носят рекомендательный характер и могут быть использованы только на этапе накопления собственных медиан в каждой лаборатории.

Таблица №1

Срок беременности, недели	Медиана PAPP-A, мЕд/л	Число образцов
8	430,6	16
9	1033,5	104
10	1564,2	175
11	2249,1	309
12	3546	389
13	4123,1	288

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2a (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. 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.

4.3. 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. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые пер-

чатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

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

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

4.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , дioxлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

– спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной

длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм;

- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 400–800 об/мин;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 20, 50, 100 и 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости 10, 100 и 300 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- флаконы вместимостью 10–15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- колбы вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре $2-8^\circ\text{C}$ не более 5 сут или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес.

Повторное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1000–1500 об/мин в течение 5 мин при температуре 18–25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при температуре 18–25°C в течение времени не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление калибровочных образцов и контрольного образца

Калибровочные и контрольные образцы готовы к использованию. Перед использованием встряхнуть.

7.4. Приготовление рабочего буферного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и довести до соответствующего объема дистиллированной водой. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре 30–40°C до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный рабочий буферный раствор можно хранить при температуре 2–8°C не более 5 сут.

7.5. Приготовление исследуемых сывороток в рабочем разведении

Готовится в лунках планшета для предварительного разведения исследуемых сывороток за 5–10 мин до начала постановки анализа.

Исследуемые сыворотки развести в 10 раз рабочим буферным раствором. В лунки планшета для предварительного разведения внести: 90 мкл рабочего буферного раствора, 10 мкл исследуемой сыворотки и тщательно перемешать.

Исследуемые сыворотки в рабочем разведении можно хранить при комнатной температуре (18–25°C) не более 30 мин.

7.5. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки после проведения ИФА утилизировать **(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)**.

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

В таблице 2 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

7.6. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс

Раствор ТМБ плюс готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента.

В таблице 2 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ плюс.

Раствор ТМБ плюс после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

Утилизировать раствор тетраметилбензидина, оставшийся в ванночке или флаконе после проведения ИФА **(не сливать во флакон с исходным раствором)**.

Таблица №2

Расход компонентов набора реагентов.

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Рабочий буферный раствор (РБР)	
			ФСБ-Т, концентрат мл	Дистил. вода, мл
2	4,0	2,0	4,0	до 100
3	6,0	3,0	6,0	до 150
4	8,0	4,0	8,0	до 200
5	10,0	5,0	10,0	до 250
6	12,0	6,0	12,0	до 300
7	14,0	7,0	14,0	до 350
8	16,0	8,0	16,0	до 400
9	18,0	9,0	18,0	до 450
10	20,0	10,0	20,0	до 500
11	22,0	11,0	22,0	до 550
12	24,0	12,0	24,0	до 600

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.8. Внести в соответствующие лунки в дублях по 20 мкл каждого калибровочного образца и по 20 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 20 мкл анализируемых образцов сыворотки крови в рабочем разведении (п. 7.5).

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10–15 мин.

7.9. Внести во все лунки по 200 мкл конъюгата (п. 7.6).

Для внесения конъюгата использовать пластиковую ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

7.10. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ и 650 об/мин.

7.11. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз рабочим буферным раствором (п. 7.4), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.12. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензида плюс (см п. 7.7), планшет заклеить пленкой и инкубировать в темноте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ и 650 об/мин.

Для внесения раствора тетраметилбензида использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

7.13. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензида, по 100 мкл стоп-реагента. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10–15 сек; при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на фотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху). Измерение проводить не позднее 10 мин после остановки реакции.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ед. опт. плотн.) от заданной concentra-

ции РАРР-А в калибровочных образцах (мЕд/л).

9.2. Определить содержание РАРР-А в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование наборов должно проводиться при температуре 2–8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2–8°C в течение всего срока годности (12 мес). Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8°C в течение всего срока годности;

- раствор тетраметилбензидина после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора;
- калибровочные образцы, контрольный образец и конъюгат после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора;
- рабочий буферный раствор можно хранить при температуре 2–8°C не более 5 сут.

10.4. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации PAPP-A в контрольном образце.

10.5. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2–8°C не более 5 суток или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес, допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови.

10.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.7. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

**По вопросам, касающимся качества набора
«РАРР-А – ИФА – БЕСТ»,**

следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест»

по адресу:

630559, Новосибирская область,

Новосибирский район,

п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 363-13-46,

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

**ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ**

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Использование в наборе реагентов специфических блокирующих агентов исключает

возможность получения ложноположительных результатов в сыворотках крови, содержащих гетерофильные, в том числе антимышинные (НАМА), антитела.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации РАРР-А в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7. настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, кото-

рые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

4. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_0 < ОП_{250} < ОП_{1000} < ОП_{2500} < ОП_{5000} < ОП_{10000}$;

– $ОП_{10000} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– $ОП_0 \leq 0,1$ о.е.;

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации РАРР-А в контроль-

ном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

ОП₀, ОП₂₅₀, ОП₁₀₀₀, ОП₂₅₀₀, ОП₅₀₀₀ и ОП₁₀₀₀₀ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0, 250, 1000, 2500, 5000 и 10000 мЕд/л соответственно.

5. Расчет результатов анализа

По результатам измерения вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности (ОП) в лунках с анализируемыми образцами.

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации РАРР-А (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий. Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию РАРР-А в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По точке пересечения определить значение концентрации РАРР-А в образце.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

В клинической практике для оценки риска врожденной патологии плода используется выражение полученных концентраций в МоМ (кратное медианы).

$$\text{МоМ} = \frac{\text{индивидуальное значение}}{\text{медиана}}$$

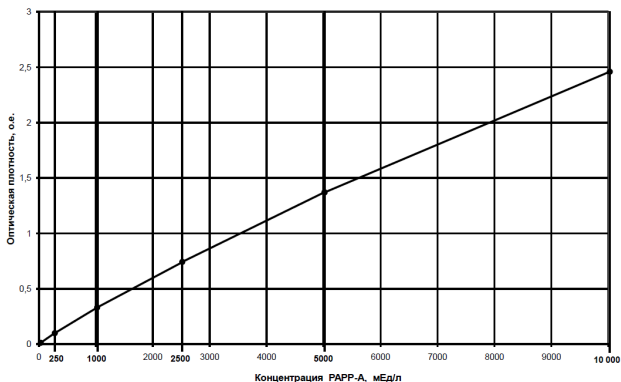


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации РАРР-А в калибровочных образцах.

6. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «РАРР-А – ИФА – БЕСТ»

*Использовать только после внимательного
ознакомления с инструкцией!*

Внести: по 20 мкл калибровочных и контрольного образцов в дублях;
по 20 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов в дублях.

Внести: по 200 мкл конъюгата.

Инкубировать: 60 мин, 37°C, 650 об/мин.

Промыть: рабочим буферным раствором, по 350 мкл, 5 раз.











Внести: по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 15 мин, 37°C, 650 об/мин, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: референсная длина волны 620–655 нм / ОП при 450 нм.

5. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-75-41.

14.03.16.

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международные сертификаты
ISO 9001 и ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G, ТТ;
ВИЧ-инфекция; ИППП; ТОРСН-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru