

## ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення тиреотропного гормону (ТТГ–БЕСТ)

### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «ТТГ–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення концентрації тиреотропного гормону (ТТГ) у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу. Набір «ТТГ–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 мишачими моноклональними антитілами до ТТГ **1 упаковка**;

**Калібрувальні проби (КП): 6 флаконів**

- КП№1- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0 мкМО/мл ТТГ,
- КП№2- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0,25 мкМО/мл ТТГ,
- КП№3- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0,75 мкМО/мл ТТГ,
- КП№4- 1 флакон, 0,5 мл, містить 2,5 мкМО/мл ТТГ,
- КП№5- 1 флакон, 0,5 мл, містить 7,5 мкМО/мл ТТГ,
- КП№6- 1 флакон, 0,5 мл, містить 15 мкМО/мл ТТГ,
- КП№7- 1 флакон, 0,5 мл, містить 40 мкМО/мл ТТГ,

**Кон'югат** моноклональних антитіл до ТТГ з пероксидазою хрому **1 флакон** (14 мл);

**РРС** (Розчин для розведення сироватки крові) **1 флакон** (3,0 мл);

**Промиваючий розчин**, концентрований водно-сольовий розчин для промивання **1 флакон** (14 мл);

**ТМБ (Розчин тетраметилбензидина)** **1 флакон** (14 мл);

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

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

**Перерахунок** 1 мкМО/мл = 1 мМО/л

### 3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

**3.1. Чутливість.** Мінімальна вірогідно обумовлена набором концентрація ТТГ у сироватці крові людини не перевищує 0,05 мкМО/мл.

**3.2. Точність.** Даний аналітичний параметр перевіряється тестом на «відкриття» ТТГ — перевірка відповідності значення визначуваної концентрації ТТГ розрахунковій величині, отриманій шляхом змішування рівних об'ємів контрольної сироватки і калібрувальної проби №6. Відсоток відкриття складає 90–110 %.

**3.3. Діапазон очікуваних значень.** ТТГ в нормі у дорослих 0,23 – 4,2 мкМО/мл.

### 4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийнятих 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 АНАЛІЗІВ

#### 7.1 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ.

**7.1.1.** Стрипи. Перед відкриттям пакет із стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі (+18...+25 °C) 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 калібрувальної проб і 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'югата на один стріп складає 1,15 мл
- 7.1.4.** РРС готовий до використання.
- 7.1.5.** Промиваючий розчин. Необхідну кількість розчину розвести дистильованою водою в 20 разів. Наприклад: 5 мл промиваючого розчину + 95 мл води, що дистилує. Ретельно перемішати, уникаючи піноутворення.
- 7.1.6.** Розчин тетраметилбензидина (ТМБ) готовий до використання. Витрата ТМБ на один стріп складає 1,15 мл
- 7.1.7.** Стопи-реагент готовий до використання. Витрата стоп-реагенту на один стріп складає 1,15 мл
- 7.1.8.** Всі реагенти перед проведенням аналізу мають бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури (+18...25 °C).
- 7.1.9.** Розведення досліджуваних зразків сироваток крові. Якщо по попереднім даним або за результатами аналізу значення концентрації ТТГ в досліджуваних зразках вище КП №6, зразки слід розвести РРС в 20 разів.

Приклад підготовки зразка до аналізу: 380 мкл РРС + 20 мкл досліджуваного зразка. При кожному розведенні необхідне ретельне перемішування.

## 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 КП № 7.
- A3, A4 - № 9 для вимірювання величини оптичної густини контрольної сироватки

**7.2.2.** В усі лунки, крім лунок A1 і A2, внести по 100 мкл кон'югату.

**7.2.3.** Внести у відповідні лунки по 50 мкл каліброваних проб і контрольної сироватки, у лунки, що залишилися, по 50 мкл досліджуваної сироватки крові в дублях.

*Примітка:* Загальний час внесення каліброваних проб, контрольної сироватки й досліджуваних зразків не повинен перевищувати 15 хвилин, щоб уникнути неправильних результатів дослідження.

**7.2.4.** Інкубувати стріпи при струшуванні протягом 30 хвилин у термо-шейкері при температурі +37°C зі швидкістю 500–800 об/хв. Або 60 хвилин при кімнатній температурі

**7.2.5.** По закінченню інкубації вилучити вміст лунок у спеціальну ємність для збору інфікованого матеріалу й промити лунки п'ять разів. При кожному промиванні в усі лунки додати по 300 мкл промиваючого розчину, приготовленого згідно п. 7.1.5, з наступним видаленням рідини в ємність для інфікованого матеріалу. По закінченню промивання ретельно вилучити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стріпами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу до зникнення слідів наявності рідини в лунках стріпів.

**7.2.6.** негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубувати стріпи в темряві при кімнатній температурі (+18...25°C) протягом 15 хвилин залежно від ступеню розвитку забарвлення.

*Примітка:* максимальна оптична густина не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу. Рекомендована максимальна оптична густина не більше 2,5 од. ОГ.

**7.2.7.** Зупинити ферментну реакцію додаванням у кожен лунку по 100 мкл стоп-реагенту. Колір реакційної суміші в лунках повинен змінитися із синього на жовтий. Струснути на шейкері протягом 1–2 хв. для рівномірного перемішування. Час між зупинкою реакції й виміром ОГ не повинен перевищувати 20 хвилин. Схема проведення аналізу наведена в **Таблиці**.

## 8. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.

**8.1.** Виміряти на фотометрі вертикального сканування ОГ в лунках при довжині хвилі 450 нм.

**8.2.** При реєстрації результату необхідно відняти значення ОГ у лунках A1 і A2 від ОГ усіх останніх лунок.

*Примітка:* середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках A1 та A2 не повинно перевищувати 0,09 од.ОГ.

## 9. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ.

**9.1.** У лінійних координатах побудувати для калібрувальних проб графік залежності ОГ (од.опт.густ.) від концентрації ТТГ у калібрувальних пробах (мкМО/мл). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення вісей.

*Примітка:* для побудови калібрувального графіка на масштабній 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 A1 і A2, то необхідно користуватися формулою:

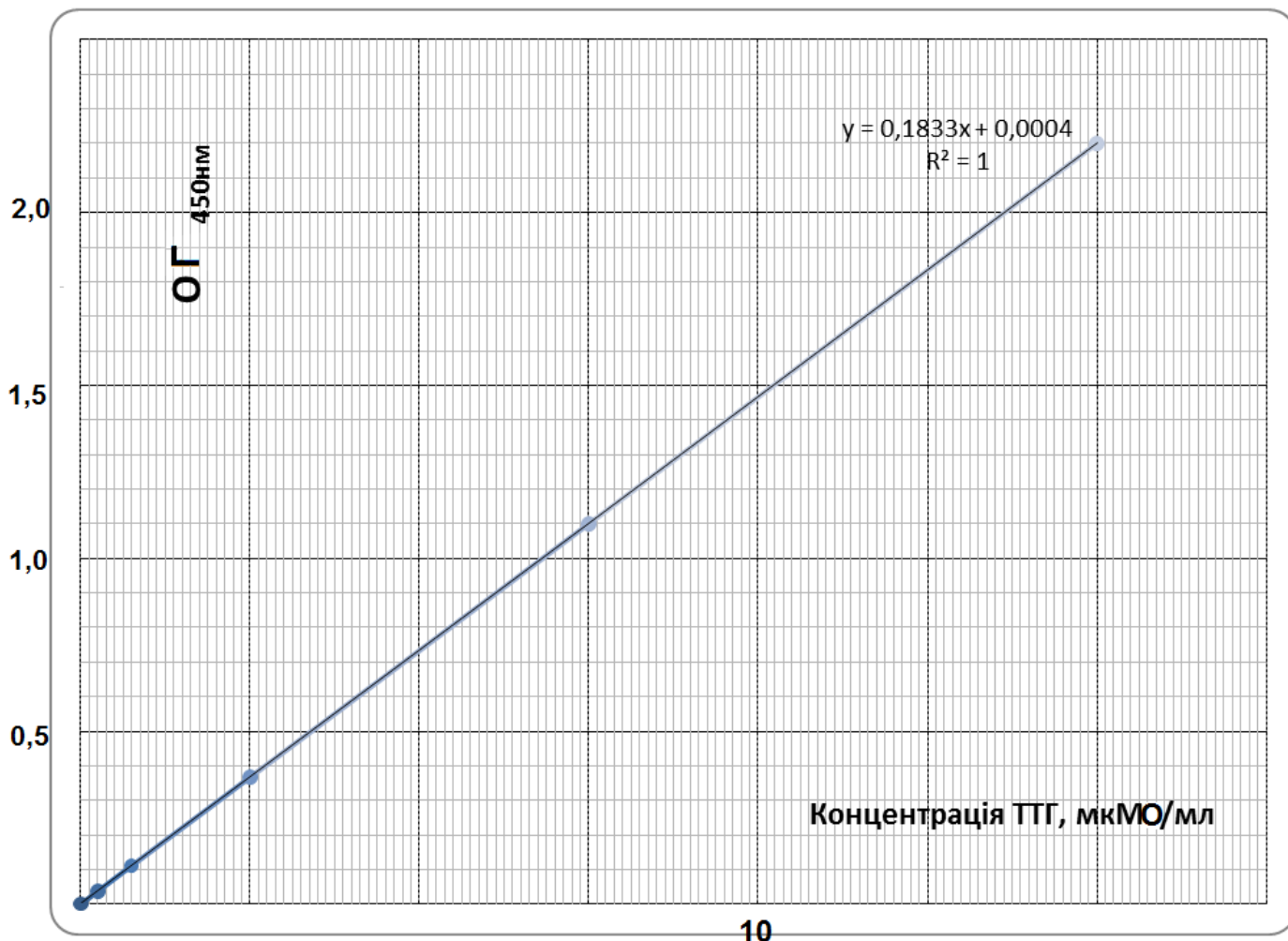
$$B - B_T,$$

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

$B_T$  - середнє арифметичне значення оптичної густини лунок A1 і A2

9.2. Визначити вміст ТТГ у досліджуваних зразках і контрольній сироватці за графіком. У випадку попереднього розведення зразків необхідно обмірювану концентрацію ТТГ помножити на фактор розведення.

Нижче наведений типовий графік залежності ОГ каліброваних проб від концентрації в них ТТГ. Даний графік наведений винятково з метою ілюстрації й не може бути використаний для розрахунків концентрації ТТГ у зразках сироваток пацієнтів:



## 10. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ Й ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ.

Набори зберігати і транспортувати при (2-8)°С. Допускається транспортування при температурі до 25°С 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](mailto:info@bestdiagnostic.com.ua)

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