



Набір для визначення ХОРИОНІЧНОГО ГОНАДОТРОПІНУ БЕТА *β -HCG ELISA KIT*

Кат. № : 102-1911
Кількість : 96
Виробник : DRG (USA)

*Методика от 12-2006
Версія 4.0*

ВСТУП

Хоріонічний гонадотропін (ХГ) – глікопротеїновий гормон, який звичайно виробляється плацентою під час вагітності. Після запліднення рівень ХГ різко зростає і досягає максимуму до кінця першого триместру. Високі концентрації спостерігаються під час всієї вагітності. Після народження рівень ХГ в сироватці швидко зменшується і до кількох днів досягає величин, що не піддаються визначенню.

Молекула ХГ складається з альфа-і бета-субодниць. Альфа-субодниця майже ідентична з такою інших глікопротеїнових гормонів, таких як Тиреоїд Стимулюючий Гормон (ТТГ), Лютеїнізуючий Гормон (ЛГ) і Фолікулостимулюючий Гормон (ФСГ); різниця в бета-субодницях цих гормонів відповідає їхній біологічній функції і з нею зв'язана імунологічна специфічність.

Моноклональні антитіла проти бета-субодниць ХГ відіграють визначну роль для диференціації ХГ з іншими гормонами.

Набір дозволяє проводити раннє діагностування вагітності.

Також разом з підвищенням концентрації ХГ під час вагітності її зростання може бути обумовлене пухлинами трофобластного і нетрофобластного походження, такі як гідатіформна хвороба, хоріонепітеліома, карцинома ембріональних клітин і багато інших.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Набір є соліднофазним ферментнозв'язаним імуносорбційним набором, створеним по принципу "сендвіча". Лунки на мікропланшетці покриті моноклональним антитілом проти антигенів на бета-ланцюгу молекули ХГ. Зразок сироватки пацієнта з ендogenous ХГ інкубується у лунці разом з ензимним кон'югатом (анти-ХГ-сироватка, кон'югована з пероксидазою хрому). Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивається водою. Кількість зв'язаної пероксидази прямо пропорційна концентрації ХГ в зразку. Після додавання субстрату інтенсивність утвореного забарвлення пропорційна концентрації ХГ в зразку пацієнта.

ПЕРЕСТОРОГИ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Тільки для діагностичного використання "in vitro".
2. Щодо інформації відносно небезпечних речовин дивіться Лист Даних Безпеки Матеріалів.
3. Методів, які б з достатньою впевненістю переконали, що такі інфекційні агенти як вірус гепатиту В, ВІЛ-вірус чи інші в компонентах набору відсутні не існує. Тому, зразки і матеріали треба вважати потенційно інфекційними і використовувати з відповідною обережністю.
4. Уникайте контакту з Стоп-розчином (0,5 M H₂SO₄). Це може спричинити подразнення шкіри і опіки.
5. Не піпетуйте реагенти ротом і уникайте контакту реагентів і зразків з шкірою і слизовими.
6. Не їште, не пийте і не курить в приміщеннях, де використовуєте зразки чи реагенти.
7. Одягайте рукавиці при роботі зі зразками і реагентами. Мікробіологічне забруднення реагентів чи зразків може дати фальшиві результати.
8. Використання набору повинно проводитись згідно з вимогами по техніці безпеки.
9. Не використовуйте реагенти після закінчення дати придатності.
10. Необхідно дотримуватись об'ємів, вказаних в інструкції. Оптимальні результати будуть отримані при використанні каліброваних піпеток.
11. Не змішуйте реагенти різних лотів і різних наборів, оскільки ці набори могли транспортуватись чи зберігатись при різних умовах.
12. Хімікалії приготвлені чи використані реагенти повинні бути оброблені відповідно до вимог по техніці безпеки.
13. Лист Даних Безпеки доступний по замовленню.

РЕАГЕНТИ

1. **Мікропланшетка з лунками:** 1шт. 96 лунок, покритих анти-ХГ-моноклональним антитілом.
2. **Набір стандартів**, 6 фл. (ліофілізовані), 1 мл. Концентрації 0,5, 25, 50, 100, 200 мМО/мл (1 пг/мл=0,00916 мМО/мл; 1 I.RP 75/537).
3. **Розчинник зразків**, 1фл., 10 мл, готовий до використання.
4. **Ензимний кон'югат**, 1 фл. 11 мл. Анти-ХГ-сироватка, кон'югована з пероксидазою хрому, готова до використання.
5. **Розчин Субстрату** - TMB, 1 фл., 11 мл. Готовий до використання.
6. **Стоп-розчин** - 0,5 M H₂SO₄, 1 фл., 6 мл. Готовий до використання. Уникайте контакту з стоп розчином, оскільки він може викликати опіки.

Замітка: Додатковий розчинник зразків для розведення зразків доступний по замовленню.

МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. Фотометр (450 нм±10 нм).
2. Калібровані мікропіпетки.
3. Дистильована вода.
4. Абсорбуючий папір.

ЗБЕРІГАННЯ

- При зберіганні при температурі 2-8°C активність реагентів буде збережена до дати виходу терміну. Не використовуйте після цієї дати.
- Ензимний кон'югат, розчин Субстрату, Стандарти і Нульовий стандарт повинні зберігатись при 2-8°C.
- Планшетка з лунками повинна зберігатись при 2-8°C. Після відкриття ящика треба знову тісно його запечатати.

ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Приведіть всі реагенти до кімнатної температури.

Стандарти в-ХГЧ.

Розведіть ліофілізований вміст флаконів стандартів 1,0 мл дистильованою водою.

Примітка: Розведені стандарти стабільні 2 місяця при 2-8°C. Для більш тривалого зберігання заморозьте до -20°C.

Знищення набору

Знищення набору повинно проводитись відповідно до вимог техніки безпеки. Спеціальна інформація для цих продуктів вказана в Листі Даних Безпеки.

Пошкодження набору

При пошкодженні набору чи його компонентів необхідно повідомити в письмовій формі виробника на протязі одного тижня після отримання продукту. Окремі пошкоджені компоненти не слід використовувати.

ЗРАЗКИ

Збір зразків

Збирайте кров, пунктуючи вену; дозволять їй зсістись; і відділіть сироватку, центрифугуючи при кімнатній температурі. Уникайте гемолізу. **УВАГА!** Цей набір тільки для роботи з кров'ю без домішок.

Зберігання зразків

Зразки повинні бути закриті і в такому виді можуть зберігатись при 2-8°C 5 днів. Для довшого зберігання зразки повинні бути заморожені до -20° С. Після відтаювання зразки необхідно кілька разів легко потрясти перед тестуванням.

Розведення зразків

Якщо при початковому аналізі, зразок сироватки показує значення вище найвищого стандарту, зразки можуть бути розведені 10- чи 100-кратно розчинником зразків і проаналізований повторно.

- Розведення 1:10: 10 мкл сироватки + 90 мкл розчинника зразків (ретельно змішайте)
- Розведення 1:100: 10 мкл розведення 1:10 + 90 мкл розчинника зразків (ретельно змішайте).

ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТУ

Загальні зауваження

1. Приведіть всі реагенти до кімнатної температури перед початком тесту. Всі реагенти змішуйте без піноутворення.
2. Після початку тесту всі кроки повинні виконуватись без затримки.
3. Використовуйте нові насадки для піпеток перед кожним використанням.
4. Абсорбція залежить від температури і часу інкубації. Тому, перед початком тесту необхідно прослідкувати, щоб все було готово: ковпачки зняті, реагенти приготвлені, лунки позначені і таке інше. Це дозволить проводити всі кроки за однакових інтервалів часу.
5. Цей набір дає абсорбцію стандарту 5 більше 1,200 на протязі 10 хвилин при кімнатній температурі. Якщо абсорбція виходить вища чи нижча, ви можете зменшити або подовжити час інкубації кінцевої ферментативної реакції формування забарвлення відповідно до потреб. За загальним правилом ферментативна реакція прямо пропорційна часу і температурі інкубації.

Процедурні зауваження

- Всі стандарти, зразки і контролю повинні тестуватись в дублікаті, щоб умови тестування були однаковими.
- Концентрація зразків може бути зчитана зі стандартної кривої. Зрази з концентрацією вище найвищого стандарту повинні бути розведені розчинником зразків. Для вичислення концентрації необхідно врахувати фактор розведення. Рекомендується поступове 1:100 розведення. Розведіть сироватку пацієнта 1:10 розчинником зразків, потім розведіть цей розчин знову 1:10 розчинником зразків.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ (кількісний метод).

1. Відділіть необхідну кількість лунок;
2. Додайте **25 мкл** Стандартів ХГ (0, 5, 25, 50, 100, 200 мМО/мл), Контролів і сироваткових зразків (**кожний раз з новою насадкою**) у відповідні лунки;
3. Додайте в кожен лунку **100 мкл** ензимного кон'югату;
4. Добре змішайте 10 секунд. Важливо досягнути повного змішування на даному етапі;
5. Інкубуйте **60 хвилин** при кімнатній температурі;
6. Різно вилийте вміст лунок;
7. Промийте лунки 5 разів дистильованою водою; Промокніть лунки на промокальному папері, щоб видалити залишки;
Важливе зауваження:
Чутливість і точність цього аналізу залежить від правильності проведення процедури промивання.
8. Додайте **100 мкл** Субстрату в кожен лунку;
9. Інкубуйте **15 хвилин** при кімнатній температурі;
10. Зупиніть реакцію додаванням в кожен лунку **50 мкл** стоп-розчину;
11. Зчитайте дані на фотометрі при **450±10 нм** на протязі **10 хвилин** після додавання стоп розчину..

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ (якісний метод).

Ця процедура дозволяє відрізнити позитивні зразки (вагітні) від негативних, порівнюючи рівні ХГ зі Стандартами 0 і 50 мМО/мл. Зразки пацієнта тестуються з розчинником Зразків (0 мМО/мл) і Стандартом (50 мМО/мл). Процедура тесту ідентична з Кількісним Методом, проте кроки 9 і 10 пропущені.

ВИРАХУВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

1. Визначте значення середньої абсорбції для кожного набору стандартів, зразків і контролів.
2. Побудуйте стандартну криву, відкладаючи середню абсорбцію для кожного стандарту на У-вісі проти відповідних концентрацій на Х-вісі в мМО/мл.
3. Використовуючи значення середньої абсорбції для кожного зразка, визначте відповідну концентрацію ХГ зі стандартної кривої. Опрацювання даних може проводитись і іншими методами, в залежності від досвіду.
4. Визначена концентрація зі стандартної кривої для розведених зразків повинна бути помножена на фактор розведення.

ЯКІСНІ РЕЗУЛЬТАТИ

Для кількісного аналізу рівнів ХГ інтенсивність забарвлення порівнюється з кольором Стандартів 0 і 50 мМО/мл.

Якщо голубе забарвлення зразку менш інтенсивне, ніж колір Стандарту 50 мМО/мл, то він вважається негативним.

Якщо інтенсивність голубого забарвлення зразку більша або рівна інтенсивності кольору Стандарту 50 мМО/мл, то він вважається позитивним.

Наступні дані прикладу стандартної кривої тільки для демонстрації і не повинні використовуватись для інших цілей.

Стандарт	Оптичні одиниці
Стандарт 0 (0 мМО/мл)	0,04
Стандарт 1 (5 мМО/мл)	0,15
Стандарт 2 (25 мМО/мл)	0,28
Стандарт 3 (50 мМО/мл)	0,53
Стандарт 4 (100 мМО/мл)	0,94
Стандарт 5 (200 мМО/мл)	1,50

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТУ**Очікувані результати**

Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала власні нормальні і патологічні значення.

Нормальні величини і медіани показані в таблиці (всі значення в мОд/мл):

ВАГІТНІ ЖІНКИ 2-ий триместр**МЕДІАНА**

Тиждень вагітності	Оцінка зразків	Медіана (MOM1)	MIN	MAX
14	103	25175	7536	82130
15	96	20597	4174	92057
16	91	14354	1824	70731
17	14	10965	2755	38677

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ

Тиждень вагітності	Оцінка зразків	5% процентність	95% процентність
14	103	10303	71980
15	96	9246	51666
16	91	5266	36947
17	14	4632	24033

УВАГА

1. Зразки з очікуваною концентрацією ХГ вищою 200 мМО/мл повинні бути розведені Розчинником перед тестом.
2. Для діагностики вагітності величина виключення в сироватці крові складає 50 мМО/мл. Негативні чи межові результати повинні бути ретестовані на свіжому зразку, взятого щонайменше 48 після забору першого зразка.
3. Хибні результати вагітності можуть визначитись при ревматоїдному артриті. В таких випадках констатацію вагітності треба проводити уважно.

Специфічність

Наступні гормони були протестовані на перехресну реактивність:

Гормони	Рівень	Інтенсивність забарвлення, еквівалент рівню ХГ, мМО/мл
ЛГ	300 мМО/мл	6
ЛГ	200 мМО/мл	< 5
ЛГ	80 мМО/мл	< 5
ТТГ	75 мкМО/мл	8
ТТГ	50 мкМО/мл	< 5
ТТГ	25 мкМО/мл	< 5
ФСГ	200 мМО/мл	< 5
ФСГ	50 мМО/мл	< 5

Чутливість

Мінімальний визначений рівень ХГ складає <1,0 мМО/мл.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Лабораторна практика показує, що необхідно, щоб контролі тестувались для кожної калібраційної кривої. Для встановлення середніх значень і допустимих коливань необхідно протестувати статистично достовірну кількість контролів.

Точність**Внутрішньотестова**

Зразок	n	Середнє, мМО/мл	КВ, %
1	20	5,9	8,9
2	20	18,5	4,0
3	20	148,1	3,4

Міжтестова

Зразок	Середнє, мМО/мл	КВ, %
1	6	9,9
2	17	7,3
3	140	6,6

Відтворюваність

Зразки	Додана конц. 1:1 (v/v), мМО/мл	Виміряна конц. мМО/мл	Очікувана конц., мМО/мл	Відтворюваність, %
1	-	148	148	100
	100	113	124	91
	75	110	111,5	99
2	50	91,6	99	93
	-	53,9	53,9	100
	25	36,6	39,45	93
3	50	46,9	51,95	90
	100	68,5	76,95	89
	-	23,9	23,9	100
	25	23,1	24,45	94
	50	33,7	36,95	91
	100	54,9	61,95	89

Лінійність

Зразки	розведення	Середня конц. мМО/мл	Відтворюваність, %
1	Нерозб.	109,8	-
	1:2	56,6	103
	1:4	28,2	103
	1:8	14,4	105
	1:16	7,41	108
2	Нерозб.	117	-
	1:2	54,7	94
	1:4	30,1	103
	1:8	15,8	108
	1:16	7,69	105
3	Нерозб.	94,9	-
	1:2	42,9	90
	1:4	25	105
	1:8	12,8	108
	1:16	6,5	110

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ**Впливаючі речовини**

Будь-яка неналежна робота зі зразками чи зміна тесту може впливати на результати.

Не впливають на результати гемоглобін (до 4 мг/мл), білірубін (до 0,5 мг/мл) і тригліцериди (до 30 мг/мл).

Побічний ефект

При тестуванні не було виявлено жодних побічних ефектів аж до 158600 МО/мл ХГ бета.

ЮРИДИЧНІ АСПЕКТИ**Достовірність результатів**

Тест необхідно проводити точно у відповідності з інструкцією виробника. Також користувачу необхідно слідувати правилам техніки безпеки, національним стандартам. Особливо це стосується використання контрольних реагентів.

Тестові результати вважаються достовірними, якщо контролі знаходяться в указаних межах і якщо інші тестові параметри також відповідають тестовій специфікації.

Терапевтичні висновки

Терапевтичні висновки не повинні базуватись на результатах одного тесту і повинні враховувати всю клінічну картину пацієнта.

Тільки якщо лабораторні дані повністю збігаються з клінічною картиною, можна встановлювати терапевтичні висновки для пацієнта.

Надійність

Будь-які зміни теста чи зміна компонентів різних лотів може негативно відобразитись на результатах тесту. Такі зміни та модифікації не можуть бути приводом для заміни набору.

Будь-які пошкодження набору при транспортуванні не відносяться до відповідальності виробника.

Інформація для замовлення:

ПМП "ДІАМЕБ",
Вул. Чорновола, 97,
м. Івано-Франківськ, 76005
Тел.: +38 (0342) 775 122;
Тел/факс: +38 (0342) 775612
E-mail: info@diameb.com

