



**Інструкція**  
**з використання тест-системи**  
**для визначення альфа-фетопроतेїну в сироватці крові**  
**АФП-ІФА**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 96 визначень з урахуванням холостих і калібрувальних проб при витраті реактивів відповідно цієї методики.

**Принцип методу**

У наданій тест-системі використовується принцип двосайтового імуноферментного аналізу (сендвіч-метод). У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-АФП-антитіла) вносять досліджуваний зразок і кон'югат (другі анти-АФП-антитіла, мічені пероксидазою). АФП із зразка зв'язується з антигеном на поверхні лунки та кон'югатом. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 nm (нм).

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості АФП у зразку.

**Клінічне значення**

АФП (альфа-фетопротеїн) - основний компонент крові плоду. Виробляється жовтковим мішком і печінкою плоду, виходить в амніотичну рідину з сечею, потрапляє в кров матері через плаценту і всмоктується плодовими оболонками. АФП виявляється в крові матері з 5 – 6 тиждів вагітності. Досліджуючи кров з вени матері, можна судити про кількість АФП, що виробляється і виділяється плодом. Так, при не заростанні будь-яких ділянок нервової трубки більшу кількість сироватки плоду виливається в амніотичну порожнину і потрапляє в кров матері.

Підвищений вміст АФП визначається при дефектах заростання нервової трубки - грижі спинного чи головного мозку, аненцефалія, при дефектах заростання передньої черевної стінки, при аномаліях нирок; при заростанні дванадцятипалої кишки. Значним для діагностики є збільшення кількості АФП в 2,5 і більше разів у порівнянні із середнім показником для даного терміну вагітності. Зміна рівня АФП може спостерігатися і при таких станах, як загроза переривання вагітності при фетоплацентарній недостатності, а також при багатоплідній вагітності, під час якої цей білок виробляється кількома плодами.

У 30% випадків хромосомних порушень, коли в плоду з'являються додаткові хромосоми в тій чи іншій парі, що веде до формування множинних вад розвитку (синдроми Дауна, Едвардса, Шерешевського-Тернера), рівень АФП виявляється зниженим.

У здорових вагітних жінок з нормальним плодом концентрація АФП підвищується до 31 тиждів, а до пологів поступово знижується. Вміст АФП в крові здорових людей зростає також при деяких злякисних новоутвореннях - первісній пухлині печінки та пухлинах фетального походження.

Показання до визначення АФП: одержання інформації про стан плоду, перебігу вагітності та прогнозу її результату; діагностика позаматкової вагітності; діагностика і моніторинг пухлин.

**Склад набору**

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.5 ml (мл), нульовий калібратор - 6 ml (мл) (всього 5 калібраторів: 0, 10, 20, 100, 200 U/ml (Од/мл); 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 ml (мл) (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 ml (мл) (1 фл.)
6. Субстрат, 11 ml (мл) (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 ml (мл) (1 фл.)
8. Інструкція з використання
9. Паспорт

**Аналітичні характеристики**

Чутливість методу: 2 U/ml (Од/мл).

Очікуванні коливання контролю: 30-45 U/ml (Од/мл).

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

**Матеріал для дослідження**

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 h (год) при 4-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C.

Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

**Перелік необхідного устаткування**

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000  $\mu$ l (мкл).  
Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 nm (нм).

**Підготовка реагентів**

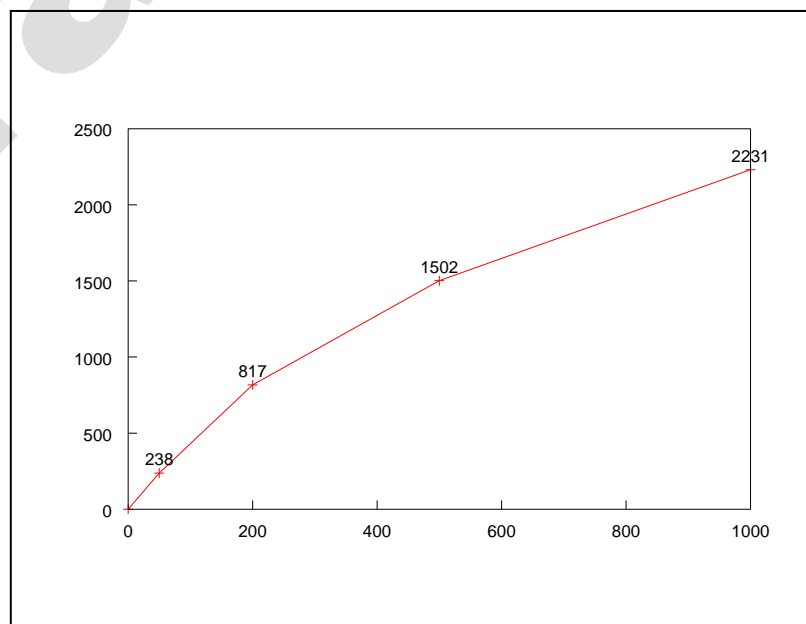
1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 min (хв). До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте у 20 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 ml (мл) концентрату + 19 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5 d (доб) при кімнатній температурі або 30 d (доб) у холодильнику 4-10°C.
3. **УВАГА!** Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи калібратор 0.

**Проведення аналізу**

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) кон'югату.
3. Внесіть у лунки 50  $\mu$ l (мкл) калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 60 min (хв) при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) субстрату.
7. Інкубуйте **15-20** min (хв) при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 nm (нм). Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
10. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію АФП в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

**Приклад калібрувальної кривої** (вісь X – концентрація, U/ml (Од/мл); вісь Y – ОЩ)

Не використовувати для обчислювання!



**Примітка**

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в **двох паралелях (повторах)**.
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250  $\mu$ l (мкл) відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко перегорніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

**Референтні величини**

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Для переходу з абсолютних значень до МОМ, одиниць медіани, треба отримане значення концентрації гормону поділити на медіану від нормальних показників, відповідних строку вагітності. Порогове значення для АФП 0,5 – 2 МОМ.

Стать, вік	Одиниці, U/ml (Од/мл)		Медіана, U/ml (Од/мл)
	нижня межа	верхня межа	
Донори		10	
Вагітні:			
14 тиждень	13.0	52.0	26.0
15 тиждень	17.0	68.0	34.0
16 тиждень	18.0	72.0	36.0
17 тиждень	21.8	87.0	43.5
18 тиждень	26.3	105.0	52.5
19 тиждень	32.0	128.0	64.0
20 тиждень	36.0	144.0	72.0
21 тиждень	38.0	152.0	76.0
22 тиждень	41.0	250.0	

**Зберігання та стабільність**

Після розкриття пакета ретельно заклейте лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не допускається замороження!

**Вимоги безпеки та утилізації**

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

**Транспортування**




Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.





Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 h (год).

**Гарантії виробника**

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

**Символи на продукції**

 Виробник **Виготовлено:** Дата виробництва **Придатно до:** Термін придатності **Серія:** Номер серії  Виріб медичний для діагностики in vitro  Консультуйтеся з інструкцією із використання

 Берегти від сонячного світла  Знак відповідності Технічним регламентам  Температурне обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів