



Інструкція

з використання тест-системи для визначення хоріонічного гонадотропіну людини в сироватці крові

ХГЛ-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-ХГ-антитіла) вносять досліджуваний зразок і кон'югат (другі анти-ХГ-антитіла, мічені пероксидазою). ХГ 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 ХГ у зразку.

Клінічне значення

ХГЛ, хоріонічний гонадотропін - синтезується тканинами хоріона відразу після імплантації ембріона, що відбувається на четверту добу після запліднення. На 7-10 d (доб) з моменту запліднення відбувається значне підвищення концентрації ХГЛ в крові матері. Найбільший рівень відзначають на 8-11 wk (тижд). До кінця першого триместру рівень ХГЛ знижується та утримується на цьому рівні протягом другого триместру. Завдяки секреції значних кількостей ХГЛ жовте тіло у вагітних залишається функціонально активним, виробляючи дуже великі кількості прогестерону. ХГЛ підвищує секрецію глюкокортикоїдів, що важливо для адаптації організму до вагітності, а також забезпечує фізіологічну імуносупресію, необхідну для розвитку плоду. У плоду чоловічої статі ХГЛ стимулює клітини Лейдіга, що синтезують тестостерон, необхідний для формування статевих органів за чоловічим типом.

Підвищення рівня ХГЛ у чоловіків, невагітних жінок спостерігається при хоріонкарциномі, міхурово занесенні, тератомі яєчка, новоутворенні шлунково-кишкового тракту, легенів, нирок, матки, дослідженні проведеному протягом 4-5 d (доб) після аборту. У вагітних жінок: багатоплідна вагітність (рівень показника зростає пропорційно кількості плодів), пролонгована вагітність, ранній токсикоз вагітних, гестоз, цукровий діабет у матері, хромосомна патологія плоду (найбільш часто при синдромі Дауна, численних вадах розвитку плоду), прийом синтетичних гестагенів.

Зниження рівня ХГЛ у вагітних жінок: позаматкова вагітність, загроза переривання (рівень гормону знижується прогресивно, більш ніж на 50% від норми), хронічна плацентарна недостатність, істинне переносування вагітності, антенатальна загибель плода (у II - III триместрах).

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. ІФА буфер, 33 ml (мл) (2 фл.)
4. Набір калібраторів та контролю по 0.5 ml (мл) (всього 6 калібраторів: 0, 15, 60, 125, 250, 500 IU/l (МОд/л); 1 контроль)
5. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 ml (мл) (1 фл.)
6. Кон'югат, 11 ml (мл) (1 фл.)
7. Субстрат, 11 ml (мл) (1 фл.)
8. Зупиняючий розчин, 11 ml (мл) (1 фл.)
9. Інструкція з використання
10. Паспорт

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 2.5 IU/l (МОд/л).

Очікуванні коливання контролю: 33-54 IU/l (МОд/л).

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 μ 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. Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи ІФА буфер. Рекомендовані розведення досліджуваних зразків сироватки (плазми) крові в залежності від тижня вагітності:

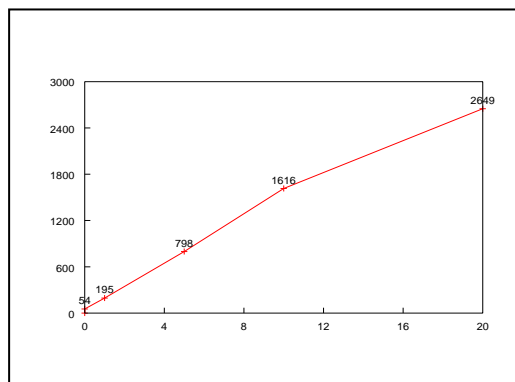
1-2 тиж.	- без розведення;
3-4 тиж. - 1:20	1:20 – додати 25 μ l (мкл) зразка до 475 μ l (мкл) ІФА буферу
4-14 тиж. - 1:400	1:400 – додати 25 μ l (мкл) розведення 1:20 до 475 μ l (мкл) ІФА буферу
14-21 тиж. - 1:400; 1:1000	1:1000 – додати 200 μ l (мкл) розведення 400 до 300 μ l (мкл) ІФА буферу
22 тиж, 3-й триместр - 1:400	1:400 – додати 25 μ l (мкл) розведення 1:20 до 475 μ l (мкл) ІФА буферу

Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 14 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100 μ l (мкл) кон'югату.
3. Внесіть у лунки 50 μ 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 μ l (мкл) субстрату.
7. Інкубуйте **15-20** min (хв) при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 μ 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 ХГЛ в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, IU/l (МОд/л); 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 та стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).

4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 μ 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 користатися 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 ХГЛ 0.5 – 2 МОМ.

Стать, вік	Одиниці, IU/l (МОд/л)	
	Нижня межа	Верхня межа
Чоловіки, жінки		15
Вагітні, тижні		
1		50
2	20	500
3	500	5000
4	3000	19000
5-8	14000	169000
9-12	16000	180000
22	4500	70000
24	3000	69500
3-й триместр	2400	50000

Перехід в додаткові одиниці: 1 IU/l (МОд/л) =

Тижні	Медіана, kIU/l (кМОд/л)
14	55
15	42.8
16	38.4
17	32.8
18	25.6
19	23
20	21
21	18

0.2 ng/ml (нг/мл).

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 середньодобовій 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
 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			