



ХЕМА

ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ НАБОРОВ
ПРОИЗВОДСТВА ООО "ХЕМА-МЕДИКА"

ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ НАБОРОВ ПРОИЗВОДСТВА ООО "ХЕМА-МЕДИКА"

1. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

Как правильно определить срок годности Набора?

Срок годности **невскрытого** Набора составляет 1 год с даты выпуска при строгом соблюдении рекомендованных условий транспортировки и хранения.

«Невскрытый Набор» означает, что крышки флаконов не открывали, а планшет находится под вакуумом (упаковка из фольги плотно облегает планшет).

Срок устойчивой работы **вскрытого** Набора в тех же условиях составляет 2 месяца и в основном ограничен сроком хранения калибровочных проб и контрольной сыворотки. Более короткий срок хранения является общим правилом для всех вскрытых ИФА наборов. Это связано с тем, что при проведении анализа во флаконы с реагентами могут попадать различные загрязнения, которые, несмотря на наличие консервантов, способны вызывать микробную или биохимическую деградацию их содержимого.

Чтобы избежать неэкономного расходования вскрытых, но редко используемых Наборов, в некоторых из них допускается **однократное** замораживание и размораживание калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах, что в обязательном порядке оговаривается в Инструкции по применению Набора.

Если в Вашей Инструкции по применению Набора нет таких указаний, можно получить соответствующие рекомендации по запросу на электронный адрес: rqc@xema.ru или по телефону (495) 737-3936.

При какой температуре следует хранить Набор?

Набор следует хранить при температуре +2-8°C до окончания срока годности, указанного на упаковке и в Паспорте контроля качества. Допускается однократное кратковременное (до 5 суток) повышение температуры хранения (транспортировки) до +20-25°C.

Особенно важно обеспечить правильное хранение планшета: если в холодильнике наблюдаются значительные колебания температуры (например, при его перегрузке), это приводит к образованию конденсата в лунках и неравномерному прогреву планшета, что очень опасно для его надлежащей работы. В таких случаях предпочтительным является хранение герметично закрытого планшета вне холодильника, в сухом и защищенном от света месте, при температуре не выше +25°C.

Внимание! Категорически запрещено замораживать **весь** Набор, т.к. это приведет к его порче.

Какие из компонентов Наборов являются взаимозаменяемыми?

Для ответа на этот вопрос необходимо найти на этикетке код и серию компонента.

Компоненты, имеющие одинаковый код (номер по каталогу) и одинаковую серию, являются полностью взаимозаменяемыми. Кроме того, на графических схемах проведения анализа (прилагаемые к Инструкции по применению Набора) взаимозаменяемые компоненты обозначены значком: ○

Внимание! Взаимозаменяемые компоненты могут встречаться в разных Наборах, например, планшет P202 используется в Наборах «ФСГ-ИФА» (K203) и «ЛГ-ИФА» (K202); планшет P221 – в Наборах «обПСА-ИФА» (K221) и «свПСА-ИФА» (K231).

Важное дополнение:

- реагент «ИФА-Буфер» синего цвета (код S011Z) является универсальным для всех Наборов, в которых он используется [например, Наборы «АТ-ТПО-ИФА» (K131) и «ХГЧ-ИФА» (K205)];
- реагент «ИФА-Буфер» красного цвета (код S012Z) имеет тот же состав, что и «ИФА-Буфер» синего цвета, поэтому они полностью взаимозаменяемы; различный цвет ИФА-Буферов используется для того, чтобы легко отличать два последовательных разведения исследуемых образцов;
- в состав всех Наборов входит один и тот же концентрат отмывочного раствора (код S004Z) с одинаковой схемой разведения и стоп-реагент (код R050Z).

Внимание! Различные Наборы производства ООО «Хема-Медика» комплектуются **двумя типами** раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)*, имеющими разные коды - R051Z (высокий сигнал) или R052Z (нормальный сигнал).

Необходимо использовать в Наборах только тот тип раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), код которого указан в Инструкции по применению Набора.

В исключительных случаях допускается использовать раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) R051Z во всех Наборах, но при этом необходимо сократить продолжительность инкубации с ним из-за ускорения процесса развития синего окрашивания в лунках планшета.

Обратная замена раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) R051Z на R052Z приводит к резкому замедлению процесса развития синего окрашивания в лунках планшета и может стать причиной получения неправильных результатов.

Как следует хранить неиспользованные стрипы планшета с сорбированными антителами или антигенами?

Неиспользованные лунки необходимо **тщательно** заклеить входящей в состав Набора бумагой для заклеивания планшета для

* Строго говоря, 3,5-тетраметилбензидин (ТМБ) является не субстратом фермента пероксидазы, а хромогенной добавкой (хромогеном), обеспечивающей изменение цвета содержимого лунок планшета вследствие ферментативного превращения перекиси водорода. Наименование компонента «Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)» (или сокращенно «Субстрат») введено нами исключительно ради простоты и краткости изложения.

предотвращения повреждающего воздействия влаги и дополнительно поместить в оригинальную упаковку (защелкивающийся пакет из фольги с осушителем-силикагелем). В таком виде стрипы допускается хранить при температуре +2-8°C и постепенно использовать в течение всего срока годности Набора.

Внимание! Категорически запрещается замораживать планшет. Это приводит к его необратимой порче. Это касается как планшета в оригинальной заводской упаковке, так и планшета, заклеенного бумагой для заклеивания планшета и помещенного в оригинальную упаковку.

Как следует хранить вскрытые флаконы с калибровочными пробами и контрольной сывороткой?

Калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2-8°C не более 2 мес.

Внимание! Категорически запрещается замораживать калибровочные пробы и контрольную сыворотку, если это не оговорено в Инструкции по применению Набора. Это приводит к их необратимой порче.

Если в Инструкции по применению Набора допускается замораживание калибровочных проб и контрольной сыворотки, их следует аликвотировать и заморозить при температуре -20°C. В таком виде калибровочные пробы и контрольную сыворотку можно постепенно использовать в течение всего срока годности Набора. Перед использованием их следует разморозить, прогреть до комнатной температуры (+18-25°C) и тщательно перемешать.

Как следует хранить вскрытый флакон с ИФА-Буфером?

Вскрытые флаконы с ИФА-Буфером синего цвета (код S011Z) и ИФА-Буфером красного цвета (код S012Z) следует хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора.

Внимание! Категорически запрещается замораживать ИФА-Буфер синего цвета (код S011Z) и ИФА-Буфер красного цвета (код S012Z). Это приводит к их необратимой порче.

Как приготовить отмывочный раствор?

В зависимости от количества используемых в анализе лунок разбавить в 10 раз дистиллированной водой необходимое количество концентрата отмывочного раствора (1 часть концентрата отмывочного раствора + 9 частей дистиллированной воды).

Например, смешать 22 мл концентрата отмывочного раствора (полный флакон, поставляемый в комплекте Набора) и 198 мл дистиллированной воды.

Перед использованием отмывочный раствор должен иметь комнатную температуру (+18-25°C).

Как следует хранить концентрат отмывочного раствора и подготовленный к работе отмывочный раствор?

Вскрытый флакон с концентратом отмывочного раствора следует хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора.

Подготовленный к работе отмывочный раствор следует хранить в течение 30 сут. при температуре +2-8°C или в течение 5 сут. при комнатной температуре (+18-25°C).

Внимание! Категорически запрещается замораживать подготовленный

к работе отмывочный раствор и концентрат отмывочного раствора. Это приводит к их необратимой порче.

Как следует хранить вскрытый флакон с конъюгатом?

Вскрытый флакон с конъюгатом следует хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора.

Внимание! Категорически запрещается замораживать конъюгат. Это приводит к его необратимой порче.

Как следует хранить вскрытый флакон с раствором субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ)?

Вскрытый флакон с раствором субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ) следует сразу же после использования плотно закрыть и хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора.

Внимание! Категорически запрещается замораживать раствор субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ). Это приводит к его необратимой порче.

При хранении на свету, а также при загрязнении раствора субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ) следами крови, окислителями и ионами металлов может наблюдаться его самопроизвольное окрашивание в синий или голубой цвета. Такой реагент нельзя использовать для проведения анализа из-за повышения фона при спектрофотометрии, снижения чувствительности и диапазона определяемых концентраций аналита.

Как следует хранить вскрытый флакон с раствором стоп-реагента?

Вскрытый флакон со стоп-реагентом следует хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора.

Какие признаки могут свидетельствовать о возможной порче компонентов Набора?

Таковыми признаками являются наличие видимых повреждений невскрытой упаковки с планшетом и флаконов с реагентами, калибровочными пробами и контрольной сывороткой; наличие в растворах осадка, взвешенных частиц, плесени, несоответствующая описанию окраска реагентов, в том числе раствора субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ). Такие компоненты нельзя использовать для проведения анализа.

Внимание! Перед началом работы следует убедиться, что все компоненты Набора по визуальным характеристикам соответствуют описанию, приведенному в Инструкции по применению Набора.

Какое количество независимых экспериментов можно провести с использованием одного Набора?

Желательно, чтобы количество независимых серий экспериментов не превышало четырех.

Внимание! При детальном использовании любого Набора возрастает риск загрязнения и порчи реагентов, входящих в его состав. Настоятельно рекомендуется использовать только чистые или одноразовые индивидуальные наконечники для дозаторов и ванночки для реагентов.

Категорически запрещается использовать одни и те же ванночки для раствора субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ) и конъюгата.

Как подготовить Набор к анализу?

Перед проведением анализа необходимо выдержать Набор при комнатной

температуре (+18-25°C) не менее 30 минут.

Упаковку планшета необходимо вскрывать только по истечении указанного времени прогрева, иначе на охлажденной поверхности лунки будут конденсироваться влага, вызывая их порчу.

Все реагенты, входящие в состав Набора, за исключением концентрата отмывочного раствора, готовы к использованию и не требуют специальной предварительной подготовки.

2. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЛАБОРАТОРНОМУ ОБОРУДОВАНИЮ, НЕОБХОДИМОМУ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРАМИ

Какое лабораторное оборудование и расходные материалы необходимы для ручного проведения анализа (т.е. без использования автоматических анализаторов)?

Помимо Набора реагентов для проведения анализа в лаборатории необходимо иметь следующее оборудование и материалы:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм в диапазоне от 0 до 3,0 единиц оптической плотности. Для полного использования Набора «ТТГ-ИФА-Плюс» (K201A) дополнительно необходим светофильтр, позволяющий измерять оптическую плотность при длине волны 492 нм.

Для соблюдения рекомендуемых условий инкубации в лаборатории необходимо иметь следующее оборудование (список приведен для **полного перечня** наших Наборов):

- воздушный термостат, поддерживающий температуру $+37^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, не предусматривающий встряхивание планшета;
- устройство для встряхивания планшетов (шейкер) при комнатной температуре (+18-25°C). Рекомендуемая интенсивность перемешивания составляет 600-800 об/мин. Кроме того, некоторые Наборы предусматривают только инкубацию при комнатной температуре (+18-25°C) без встряхивания, в таком случае дополнительного оборудования не требуется.

Внимание! Внимательно ознакомьтесь с Инструкциями по применению Наборов, с которыми будут работать сотрудники лаборатории для создания необходимого минимума оборудования. Следует иметь в виду, что для многих Наборов предусмотрены **альтернативные** условия инкубации планшетов, например, инкубация со встряхиванием при комнатной температуре (+18-25°C) **или** инкубация при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ без встряхивания;

- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости в диапазоне от 5,0 мкл до 1,0 мл;
- дозатор восьмиканальный, позволяющий отбирать объемы жидкостей до 250 мкл со сменными наконечниками или промывающее устройство для планшетов;

Примечание. Восьмиканальный дозатор также рекомендуется использовать для одновременного внесения реагентов в лунки планшета

[ИФА-Буфера, конъюгата, раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) и стоп-реагента];

- мерный цилиндр на 500 мл;
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная.

На какие возможные проблемы, связанные с работой спектрофотометра, следует обратить внимание?

- погрешность измерения оптической плотности содержимого лунок без предварительного прогрева прибора может значительно превышать допустимую. Стандартное время прогрева спектрофотометра обычно составляет 1-5 мин.
- в большинстве спектрофотометров предусмотрен ручной выбор фильтров, соответствующих разным длинам волн, в связи с чем перед началом работы необходимо убедиться, что выбран правильный фильтр (450 нм);

Как часто необходимо проверять работу дозирующего оборудования?

Неправильные объемы реагентов, вносимых в лунки, критическим образом сказываются на результатах анализа. Поэтому раз в месяц необходимо проверять дозаторы на точность и сходимости результатов пипетирования, например, весовым методом. Допустимая погрешность дозаторов не должна превышать 5%.

Какие требования предъявляются к чистоте лабораторной посуды?

Вся стеклянная посуда, а также ванночки для реагентов должны быть тщательно вымыты и высушены. Следует иметь в виду, что даже следовые загрязнения синтетическими моющими средствами и окисляющими реагентами могут отразиться на стабильности реагентов и результатах анализа.

Необходимо выделить отдельную посуду (ванночки для реагентов) и, по возможности, **отдельные дозаторы** со сменными наконечниками для работы с конъюгатом и раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ). Рекомендуется использовать одноразовые ванночки для реагентов и наконечники дозаторов. При надевании наконечников на дозатор нельзя касаться кончиками наконечников рабочих поверхностей стола, лабораторной посуды, упаковки Набора, рук и рабочей одежды оператора.

Можно ли использовать Наборы производства ООО «Хема-Медика» в ИФА-анализаторах?

Да, если данный прибор рассчитан на проведение анализа в стандартном 96-луночном планшете и имеет «открытое» программное обеспечение. Для некоторых наборов необходимо, чтобы в составе анализатора имелся термостатируемый инкубатор, поддерживающий температуру $+37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

Внимание! Некоторые автоматические ИФА-анализаторы не обеспечивают одинаковую продолжительность инкубации в разных лунках планшета. Это связано с последовательным и недостаточно быстрым внесением реагентов Набора в лунки. В этом случае будет наблюдаться дрейф результатов, особенно заметный при анализе большого числа исследуемых образцов, а также в наборах с короткой инкубацией (30 мин.). Для оценки

степени искажения результатов рекомендуется располагать лунки с контрольной сывороткой в начале и в конце серии анализируемых образцов.

3. ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Какие правила необходимо соблюдать при получении, обработке и хранении исследуемых образцов?

Образцы венозной крови отбирают с 7 до 11 часов утра в чистые сухие пробирки, или пробирки, содержащие ЭДТА, цитрат или гепарин в качестве антикоагулянта.

Возможность использования антикоагулянта и его рекомендуемый тип указаны в Инструкции по применению Набора.

Через 30 минут отделяют сыворотку (плазму) от форменных элементов крови центрифугированием (10 мин. при 1000 об/мин) и переносят ее в чистую сухую пробирку.

Если анализ не будет проводиться в течение 24 часов, исследуемые образцы следует разделить на аликвоты и заморозить при температуре -20°C . Для большинства наборов следует избегать более одного цикла замораживания-оттаивания образцов. Архивные образцы сывороток крови должны храниться в лаборатории при температуре -20°C в течение как минимум 7 суток, чтобы иметь возможность повторить анализ в данных образцах при получении сомнительных результатов (например, другим методом).

Специальные рекомендации по получению, обработке и хранению исследуемых образцов приведены в Инструкциях по применению наборов и в Информационных Досье на Наборы, доступные на сайте www.xema.ru или в печатном виде по запросу rqc@xema.ru.

Примечание. Методы отбора и обработки других видов биологического материала (слюна, цельная капиллярная кровь и др.) подробно изложены в Инструкциях по применению наборов.

Какие образцы нельзя использовать для анализа?

Искажение результатов анализа может наблюдаться при использовании мутных, хилезных и гемолизированных образцов, а также образцов сыворотки (плазмы) крови, прошедших несколько циклов замораживания и оттаивания.

Как подготовить образцы к анализу?

Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови необходимо прогреть до комнатной температуры ($+18-25^{\circ}\text{C}$), тщательно перемешать и при необходимости отцентрифугировать.

Образцы с высоким уровнем аналита, выходящим за верхний предел калибровочного графика, необходимо разбавить так, как указано в Инструкции по применению набора.

Внимание! Для разведения исследуемых образцов необходимо использовать только рекомендуемый вид разбавителя. В противном случае результаты анализа могут значительно искажаться.

Как правильно подготовить замороженные образцы?

Замороженные образцы сывороток или плазм необходимо выдержать при комнатной температуре (+18-25°C) до полного оттаивания и тщательно перемешать. Следует иметь в виду, что недостаточное перемешивание размороженных образцов – частый источник неправильных результатов анализа.

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Как можно оптимизировать процедуру анализа при одновременном проведении нескольких видов исследований?

В зависимости от поставленных задач, можно группировать исследования **по принципу общего протокола** (одинаковые объемы вносимых реагентов, одинаковое количество и продолжительность инкубаций, наличие общих и взаимозаменяемых реагентов), либо по принципу **одного профиля**, например, проводить параллельное определение маркеров патологии щитовидной железы в одной группе исследуемых образцов. В последнем случае удобнее начинать с протоколов, предусматривающих продолжительную инкубацию, а затем переходить к анализам с короткой инкубацией. Разумное и обоснованное группирование типов исследований приводит к существенной экономии времени и трудозатрат, т.к. позволяет использовать для разных видов анализа одни и те же ванночки с реагентами, дозаторы, установленные на один и тот же объем, и одни и те же наконечники. Мы разработали несколько подобных **групповых протоколов** для удобства пользователей (доступны на сайте www.xema.ru или по запросу на rqc@xema.ru).

Какое количество репликатов для каждого исследуемого образца является оптимальным?

Для максимально полного обеспечения контроля качества лабораторных исследований анализ калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов рекомендуется проводить в дубликатах.

Допускается ли проводить анализ в монопликатах?

Проведение анализа в монопликатах часто используется в лабораторной практике для снижения стоимости одного исследования. Тем не менее, это является фактором риска получения неправильных результатов. При анализе калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов в монопликатах невозможно оценить величину разброса в параллелях и провести на ее основании выбраковку неправильных или сомнительных результатов.

Калибровочные пробы всегда необходимо ставить в репликатах, т.к. случайный «выброс» одной точки может привести к неправильному обсчету всех образцов, попадающих в соответствующую область кривой. Анализ неизвестных образцов рекомендуется также проводить в дубликатах, чтобы иметь возможность повторить исследование при наличии существенного разброса результатов для одного и того же образца.

На что следует обратить внимание при внесении реагентов в лунки планшета?

Для получения точных результатов очень важна правильная техника пипетирования, позволяющая свести к минимуму случайную ошибку объема добавляемого образца. Следует надавить на поршень дозатора до второго упора, погрузить наконечник в образец, плавно (не резко, чтобы не было завихрений и расплескивания образца внутри наконечника) отобрать необходимый объем, снять каплю снаружи наконечника, коснувшись им края пробирки (капля обычно формируется при глубоком погружении наконечника в образец), внести наконечник в лунку и выдавить образец до первого упора вдоль стенки лунки. При этом необходимо, чтобы наконечник касался поверхности жидкости, иначе на нем образуется капля, и часть объема не будет добавлена.

Необходимо строго соблюдать указанный в Инструкции по применению Набора порядок и очередность внесения реагентов и образцов в лунки планшета.

Все работы по внесению реагентов и образцов должны проводиться максимально ритмично и быстро, без значительных перерывов.

Нельзя оставлять незаполненные реагентами лунки в перерывах между стадиями анализа или после их отмывки. При вынужденной паузе необходимо положить планшет лунками вниз на лист влажной фильтровальной бумаги.

Интервалы между внесением и удалением раствора при отмывке лунок должны быть минимальными.

Необходимо строго соблюдать рекомендуемый режим отмывки лунок и не допускать произвольного изменения объемов жидкости, количества циклов и последовательности отмывок.

Влияет ли температурный режим на результаты анализа?

При пониженных температурах (ниже $+18^{\circ}\text{C}$) все процессы, протекающие на стадиях инкубации и ферментативного окрашивания, замедляются. Это приводит к снижению регистрируемой оптической плотности растворов в лунках, значительному ухудшению характеристик метода, а иногда и к неправильным результатам.

При высокой температуре (свыше $+25^{\circ}\text{C}$) все процессы, протекающие во время анализа, ускоряются, скорость ферментативного окрашивания возрастает, и поэтому значения оптической плотности растворов в лунках могут значительно превышать 3,0 единицы, что существенно затрудняет учет результатов или делает его невозможным.

Может ли продление инкубации компенсировать влияние низкой температуры, если в помещении холодно (ниже $+18^{\circ}\text{C}$)?

Попытки компенсировать влияние низкой температуры путем продления инкубации не всегда бывают успешными, поэтому если в помещении слишком холодно, лучше проводить инкубацию в термостате, поддерживающем рекомендованную температуру, включая комнатную ($+18-25^{\circ}\text{C}$).

Допустимо ли сократить инкубацию, если в помещении жарко (выше $+25^{\circ}\text{C}$)?

Если в помещении слишком жарко, то при использовании Наборов, в которых предусмотрена инкубация при комнатной температуре, например, «АТ-ТПО-

ИФА» (K131) и «АТ-ТГ-ИФА» (K132), будет наблюдаться значительное усиление сигнала (оптической плотности растворов в лунках). В этом случае разрешается сократить время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) до 7-10 минут. Если, несмотря на принятые меры, интенсивность окраски остается избыточной, следует удалить часть хромогенной смеси из **всех** лунок (см. ниже) и повторно измерить в них оптическую плотность.

Нельзя проводить инкубацию планшетов вблизи нагревательных приборов, так как температура в разных лунках будет различной, а изменения результатов анализа станут непредсказуемыми.

Допустимо ли заменить инкубацию в термостате при +37°C инкубацией при комнатной температуре (+18-25°C) со встряхиванием?

Да, если это оговорено в Инструкции по применению Набора. Однако, даже при наличии альтернативы, рекомендуется всегда придерживаться одного типа инкубации планшетов, например, только в термостате при +37°C или только при комнатной температуре (+18-25°C) и постоянном встряхивании.

Какие рекомендации следует соблюдать при отмывке лунок?

Качество отмывки лунок крайне важно для получения надежных результатов. В каждом цикле отмывки лунки должны равномерно и практически полностью заполняться раствором.

После удаления отмывочного раствора в лунках не должно оставаться следов жидкости. Это необходимо для полного удаления непрореагировавших компонентов.

Слишком долгое пребывание отмывочного раствора в лунках и увеличение количества циклов отмывки может приводить к отмыванию связанного конъюгата и ухудшать качество анализа.

Остатки отмывочного раствора следует удалить простукиванием перевернутого планшета на листе фильтровальной бумаги.

На что следует обратить внимание при развитии окрашивания в лунках [стадия инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)]?

Необходимо соблюдать рекомендованную в Инструкции по применению Набора температуру и продолжительность стадии инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ).

Процесс развития окраски в лунках желательно контролировать визуально. Инкубацию планшета с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) необходимо проводить в темноте, чтобы избежать краевых эффектов (более яркой окраски краевых лунок) и, как, следствие, значительной дисперсии результатов.

Инкубация в термостате позволяет стандартизовать процесс развития окраски, что важно для получения надежных воспроизводимых результатов. Этот прием настоятельно рекомендуется использовать, если температура в помещении подвержена значительным колебаниям.

Что может повлиять на результаты спектрофотометрии содержимого лунок?

Наличие царапин, отпечатков пальцев, капель и других загрязнений на дне лунок с обеих сторон планшета может изменять (иногда довольно сильно) показания оптической плотности.

Измерение оптической плотности содержимого лунок необходимо произвести не позднее 15 минут после внесения стоп-реагента. Это связано с тем, что реакция окисления хромогена после внесения кислоты до конца не останавливается, а оптическая плотность растворов в лунках продолжает возрастать.

Спектрофотометрию следует проводить только при рекомендованной длине волны, т.к. даже незначительное её изменение может привести к падению регистрируемых значений оптической плотности.

Наличие **пузырьков воздуха** в лунках планшета, иногда появляющихся после внесения стоп-реагента в лунки, приводит к рассеиванию света и ложному завышению оптической плотности при спектрофотометрии.

Как учитывать результаты, если оптическая плотность растворов в лунках оказалась слишком высокой?

Если интенсивность окраски растворов в лунках превышает верхний предел измеряемой оптической плотности для данного спектрофотометра (для большинства используемых в лабораториях спектрофотометров такой верхний предел составляет 2,5-3,0 ед. опт. плотн.), необходимо отобрать дозатором половину содержимого всех лунок планшета и провести повторную регистрацию результатов.

5. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как строится калибровочный график?

Построение калибровочного графика и определение содержания аналита при КОЛИЧЕСТВЕННОМ определении разрешается проводить вручную, с использованием линейной или логарифмической масштабной бумаги, а также с помощью специальных компьютерных программ, в том числе программы "ИФА", разработанной ООО "Хема-Медика".

Как рассчитать результаты для предварительно разведенных образцов?

Если предварительное разведение образцов является **обязательной** стадией анализа, например, при определении АТ-ТПО или АТ-ТГ, когда все исследуемые образцы стандартно разводятся в 101 раз, то коррекции данных, рассчитанных по калибровочному графику, не требуется. Это связано с тем, что калибровочные пробы и контрольная сыворотка в таких Наборах также предварительно разведены в 101 раз, т.е. фактор разведения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов является одинаковым. Однако если содержание аналита в предварительно разведенном исследуемом образце выходит за верхний предел определяемых с помощью Набора концентраций, его следует **дополнительно** развести, как указано в Инструкции по применению Набора, и провести повторный анализ. В этом случае полученный результат необходимо умножить только на **дополнительный** фактор разведения.

В большинстве наборов **предварительного разведения** исследуемых образцов **не требуется**. Однако если измеренное содержание аналита в исследуемом образце превышает верхний предел определяемых концентраций, его следует развести, как указано в Инструкции по применению набора, и провести анализ повторно. В этом случае полученный результат необходимо умножить на фактор разведения. Рекомендуемый фактор разведения может зависеть от вида исследуемого образца, например, при определении концентрации ХГЧ на различных сроках беременности. Детальная информация приведена в Инструкциях по применению наборов.

Допускается ли для расчета результатов анализа использовать калибровочный график, приведенный в Паспорте контроля качества?

Для каждого анализа необходимо строить индивидуальный калибровочный график и обязательно использовать контрольную сыворотку (диапазон содержания аналита в контрольной сыворотке указан в Паспорте контроля качества и на этикетке флакона).

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРАМИ

Какую опасность и потенциальный риск представляют реагенты, входящие в состав наборов?

Попадание на кожу стоп-реагента, состоящего из 5% серной кислоты, вызывает раздражение. В случае попадания стоп-реагента на кожу следует промыть пораженный участок большим количеством воды. 3,5-тетраметилбензидин, входящий в состав раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), является потенциальным канцерогеном. Все остальные компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Внимание! Определенную потенциальную опасность для лабораторного персонала представляют реактивы, содержащие компоненты человеческого происхождения (калибровочные пробы и контрольная сыворотка), а также исследуемые образцы сыворотки и плазмы крови, которые следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, могущий содержать вирусы гепатита, ВИЧ и других возбудителей заболеваний. Поэтому при работе с набором необходимо использовать одноразовые перчатки.

Составители:

Генеральный директор ООО «Хема-Медика»,
кандидат медицинских наук
Ведущий научный сотрудник ООО «Хема-Медика»

Лебедин Ю.С.
Карпова Т.В.



г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, к. 4, 1-й под., 5-й эт.
Тел./факс: +7 (495) 510-57-07
E-mail: info@xema.ru
URL: www.xema.ru



Ассоциация производителей производителей
продукции химической и нефтехимической промышленности



Система менеджмента качества
сертифицирована по ИСО 9001:2008