

ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ НАБОРОВ ПРОИЗВОДСТВА ООО «ХЕМА»

1. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

► **Как правильно определить срок годности Набора?**

Срок годности **невскрытого** Набора составляет 1 год, начиная 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 плотно облегает планшет).

Срок устойчивой работы **вскрытого или используемого дробно** Набора в тех же условиях составляет 2 месяца со дня вскрытия и в основном ограничен сроком годности 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 электронные адреса:

rqs@xema.ru, 88005052345@xema.ru

или по телефону горячей линии: **8-800-505-23-45**, звонки по всей территории России со стационарных и мобильных телефонов бесплатны.

► **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 повышение температуры хранения (транспортировки) до +25 °C не более 5 суток.

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 °С. В случае дробного использования Набора оставшиеся стрипы необходимо тщательно заклеивать бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности.

Категорически запрещено замораживать и подвергать чрезмерному нагреванию весь Набор, т.к. это приведет к его порче

При транспортировке следует использовать термоконтейнеры, способные обеспечить оптимальную температуру для Наборов.

► **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. 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), «ГР-ИФА» (K204), «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 S008Z) с одинаковой схемой разведения;
- стоп-реагент (код R050Z) также взаимозаменяем для всех Наборов.

Различные Наборы производства ООО «ХЕМА» комплектуются **двумя типами** раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)¹, имеющими разные коды – R051Z (высокий сигнал) или R055Z (нормальный сигнал).

1 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.

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 R055Z приводит к резкому замедлению процесса развития синего окрашивания в лунках планшета и может стать причиной получения неправильных результатов.

► **Как следует хранить неиспользованные стрипы планшета?**

Неиспользованные лунки необходимо **тщательно** заклеить входящей в состав Набора бумагой для заклеивания планшета для предотвращения повреждающего воздействия влаги и дополнительно поместить в оригинальную упаковку с осушителем-силикагелем. В таком виде стрипы допускается хранить при температуре +2...+8 °С и постепенно использовать в течение всего срока годности Набора.

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 °С не более 2 мес.

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 °С. 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 °С) и тщательно перемешать, избегая вспенивания.

► **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 °С в течение всего срока годности Набора.

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 21 раз дистиллированной водой необходимое количество концентрата отмывочного раствора (1 часть концентрата отмывочного раствора + 20 частей дистиллированной воды).

Например, смешать 22 мл концентрата отмывочного раствора (полный флакон, поставляемый в комплекте Набора) и 440 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать. Перед использованием отмывочный раствор должен иметь комнатную температуру (+18...+25 °С).

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

Вскрытый флакон с концентратом отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Подготовленный к работе отмывочный раствор следует хранить в течение 30 сут. при температуре +2...+8 °С или в течение 5 сут. при комнатной температуре (+18...+25 °С).

Категорически запрещается замораживать подготовленный к работе отмывочный раствор и концентрат отмывочного раствора. Это приводит к их необратимой порче.

В случае нехватки отмывочный раствор предоставляется производителем в любом количестве безвозмездно.

► **Как следует хранить вскрытый флакон с конъюгатом?**

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

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

► **Как следует хранить вскрытый флакон с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)?**

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

Категорически запрещается замораживать раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ). Это приводит к его необратимой порче.

При хранении на свету, а также при загрязнении раствора субстрата тетраметилбензидина (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 °С в течение всего срока годности Набора. При изменении окраски стоп-реагента использовать его не рекомендуется.

► **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 тетраметилбензидина (ТМБ).

Такие компоненты нельзя использовать для проведения анализа.

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.

При дробном 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 тетраметилбензидина (ТМБ) и конъюгата.

Ванночки для реагентов при необходимости поставляются бесплатно производителем наборов.

► **Как подготовить Набор к анализу?**

Перед проведением анализа необходимо выдержать Набор при комнатной температуре (+18...+25 °С) не менее 30 минут.

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

Все реагенты, входящие в состав Набора, за исключением концентрата отмывочного раствора и концентрата конъюгата в наборах – «Т3-ИФА» (K211) и «Т4-ИФА» (K212), 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 от любого производителя:

- спектрофотометр вертикального сканирования (ридер), 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 планшет (шейкер) при комнатной температуре ($+18...+25^{\circ}\text{C}$). Рекомендуемая интенсивность перемешивания составляет 600–800 об/мин. Кроме того, некоторые Наборы предусматривают только инкубацию при комнатной температуре ($+18...+25^{\circ}\text{C}$) без встряхивания, в таком случае дополнительного оборудования (термошейкер) не требуется.
- 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 планшет;
- мерный цилиндр на 500 мл;
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная.

Внимательно ознакомьтесь с Инструкциями по применению Наборов, с которыми будут работать сотрудники лаборатории для создания необходимого минимума оборудования.

Примечание. Восьмиканальный дозатор также рекомендуется использовать для одновременного внесения реагентов в лунки планшета [ИФА-Буфера,

конъюгата, раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) и стоп-реагента].

► **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 3%.

► **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. Поэтому посуду следует тщательно ополаскивать дистиллированной водой.

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» 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 $+37^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. 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.

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 48 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).

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. Нельзя использовать для анализа сыворотку (плазму) крови, в которую в качестве консерванта добавлен азид. Из исследований также исключаются сыворотки крови людей, принимавших препараты, содержащие мышинные антитела.

► Как подготовить образцы к анализу?

Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови необходимо прогреть до комнатной температуры (+18...+25 °С), 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.

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 °С) до полного оттаивания и тщательно перемешать. Следует иметь в виду, что недостаточное перемешивание размороженных образцов – частый источник неправильных результатов анализа.

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

► **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 °С) 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 °С) 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 °С)?***

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 °С).

► ***Допустимо ли сократить инкубацию, если в помещении жарко (выше +25 °С)?***

Если в помещении слишком жарко, то при использовании Наборов, в которых предусмотрена инкубация при комнатной температуре, например, «АТ-ТПО-ИФА» (К131) и «АТ-ТГ-ИФА» (К132), 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 планшет вблизи нагревательных приборов, так как температура в разных лунках будет различной, а изменения результатов анализа станут непредсказуемыми.

► **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 окрасивания 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».

► **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.

Определенную потенциальную опасность для лабораторного персонала представляют реактивы, содержащие компоненты человеческого происхождения, 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.