

СР	7041/2007
	11.10.2012

**Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.**

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

IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

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 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 сечою, потрапляє в кров матері через плаценту і всмоктується плодовими оболонками. АФП виявляється в крові матері з 5 - 6-го тижня 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 плода 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-го тижня, а до пологів поступово знижується. Вміст АФП в крові здорових людей зростає також при деяких злоякісних 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.)

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

3. Набір калібраторів та контролю по 0.5 мл, нульовий калібратор - 6 мл (всього 5 калібраторів: 0, 10, 20, 100, 200 Од/мл; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20х, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 мл (1фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 2 Од/мл.

Очікуванні коливання контролю: 30-45 Од/мл.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°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 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшета, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.
3. **УВАГА!** Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи калібратор 0.

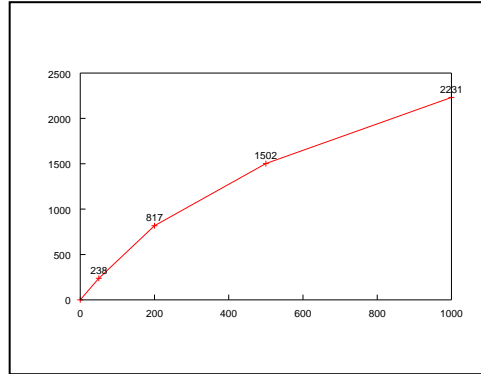
Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
3. Внесіть у лунки 50 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте 15-20 хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 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.

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 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, Од/мл; вісь Y – ОЩ)
 Не використовувати для обчислювання!



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, Од/мл		Медіана, 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	

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!
 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, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61050, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт
Тест-система для визначення
альфа-фетопротеїну в сироватці крові

АФП - ІФА

IN VITRO

Серія **695/2**
Дата виготовлення **07.12.2012**
Термін придатності **07.06 .2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, Од/мл	2		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, Од/мл	30-45		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 10, 20, 100, 200 Од/мл; 1 контроль)	червоний	1 фл. х 6 мл 5 фл. х 0.5 мл	відповідає
2.4	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. х 22 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	червоний	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.6	Субстрат	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.7	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002