



















## 9. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1□	14	
2	Розведіть зразки сироватки (плазми) крові в 101 раз, використовуючи І А у ер (S + 500)	Z
3	Якщо передбачувана концентрація анти-ДПГ IgA в досл джуваному зразку перевищує 100 Од/мл, його слід додатково розвести, використовуючи ФА-буфер для розведення зразк в (S01123). Використання інших буферів чи реагентів для розбавлення зразк в може призвести до помилкових результатів. Прим тка: в такому випадку для отримання над йних результатів в рекомендуємо використовувати декілька посл довших розведень досл джуваного зразка сироватки (плазми) кров .	
4□	<b>Сыворотки. В остальных лунках внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.	
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>	
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7. 3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.	
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>	
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37°С.</b>	
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз</b> .	
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.	
11	<b>Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.</b>	

Продолжение таблицы на стр. 8

12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реакента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация анти-ДПГ IgA в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание анти-ДПГ IgA в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.3), умножьте полученный результат на фактор разведения.

**Примечание:****Подготовка образцов**

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
Сыворотка (плазма) крови	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов	5 мкл образца + 500 мкл буфера для разведения образцов	100	1

## 10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

**10.1.** Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

**Примечание.** Значения концентраций анти-ДПГ IgA в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (2.5 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация анти-ДПГ IgA ниже 2.5 Ед/мл или выше 100 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	-	10.0

По вопросам, касающимся качества Набора «**АНТИ-ДПГ IgA-ИФА**», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,

тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: [gqs@xema.ru](mailto:gqs@xema.ru); [88005052345@xema.ru](mailto:88005052345@xema.ru)

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин