

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2010 г. № _____

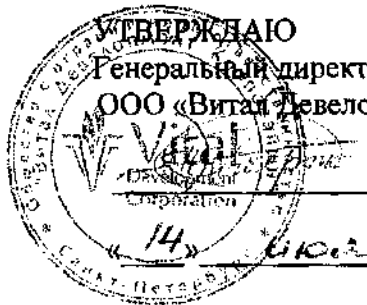
УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н.Схолль-Энгбертс

2010 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
иммуноглобулина М (IgM) в сыворотке крови
иммунотурбидиметрическим методом

(ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ предназначен для количественного определения концентрации общего иммуноглобулина класса М (IgM) в сыворотке крови человека иммунотурбидиметрическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

IgM в крови циркулируют в виде пентамера с молекулярной массой около 970 кДа. IgM играют важную роль в гуморальной защите организма, осуществляя ранний ответ организма на инфекцию. Они являются наиболее «ранними» из всех классов иммуноглобулинов, составляя 5-10% от общего содержания иммуноглобулинов сыворотки крови. IgM агглютинируют бактерии, нейтрализуют вирусы, активируют комплемент. Они играют важную роль в элиминации возбудителя из кровеносного русла, в активации фагоцитов.

Количественное определение содержания IgM в сыворотке крови имеет важное значение для диагностики инфекционных заболеваний, особенно в остром периоде, а также для диагностики типов иммунодефицитов и миелом. Повышенное содержание IgM в сыворотке крови может свидетельствовать о наличии острого воспалительного или инфекционного заболевания. Повышенное содержание IgM в сыворотке пуповинной крови у новорожденных может означать наличие врожденной инфекции.

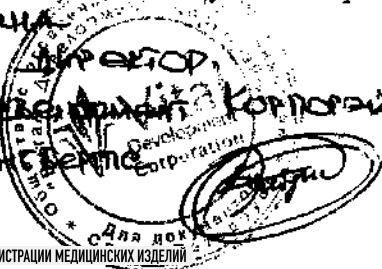
Набор рассчитан для проведения 200 или 400 определений при расходе 0,45 мл реагента 1 и 0,04 мл реагента 2 на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Для определения концентрации иммуноглобулина М использован метод иммунотурбидиметрического анализа. Исследуемые и контрольные образцы смешивают с буфером и антисывороткой. IgM формируют иммунные комплексы с антителами, входящими в состав антисыворотки, образуя мутную суспензию, оптическую плотность которой измеряют фотометрически при длине волны 340 нм. Концентрация IgM прямо пропорциональна величине оптической плотности исследуемых образцов и определяется по калибровочному графику.

КОПИЯ ВЕРНА
Генеральный директор
ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»
Е.Н.Схолль-Энгбертс



Инициалы
02.08.10 г.

2.2. Состав набора:

- реагент 1: буфер {фосфатно-солевой буферный раствор [натрия фосфат двузамещенный, калия дигидрофосфат; 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л] pH 7,43; полиэтиленгликоль, 40 г/л; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию - 1 флакон (90 мл) или 1 флакон (180 мл);
- реагент 2: антисыворотка {фосфатно-солевой буферный раствор [натрия фосфат двузамещенный, калия дигидрофосфат; 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л] pH 7,43; козы поликлональные антитела к иммуноглобулину М; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию - 2 флакона (по 4,0 мл) или 1 флакон (16 мл);
- калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека с использованием препарата IgM человека, содержащие известные количества IgM: 0; 0,2; 0,4; 1,0; 2,0; и 5,0 мг/мл; концентрации IgM в калибровочных пробах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов - 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgM - 1 флакон (0,5 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации IgM - в диапазоне от 0,2 до 5,0 мг/мл, отклонение от «линейности» - не более 8 %.

Чувствительность определения - не более 0,1 мг/мл.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 8 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины концентрации IgM в сыворотке крови составляют: для мужчин - 0,34 - 2,14 мг/мл, для женщин - 0,4 - 2,5 мг/мл.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин концентраций IgM для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

При работе с набором необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. сыворотка крови человека является потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Автоматический (полуавтоматический) биохимический анализатор или спектрофотометр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные, позволяющие отмерять объемы жидкости 25 мкл, 40 мкл, 100 мкл, 450 мкл и 900 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- раствор натрия хлорида (0,9% NaCl);

- перчатки резиновые или пластиковые;
- масштабно-координатная бумага.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови человека.

Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 2 сут; при необходимости более длительного хранения (до 3 мес) – при температуре минус 20°C и ниже. Повторное замораживание образцов не допускается.

7. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение времени не менее 30 мин.

Реагент 1 и реагент 2 готовы к использованию.

Приготовление калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых проб сыворотки крови.

Перед использованием развести каждую калибровочную пробу, каждую анализируемую пробу сыворотки крови пациента и контрольную сыворотку физиологическим раствором в 10 раз (0,1 мл калибровочной пробы, анализируемой пробы сыворотки крови пациента или контрольной сыворотки + 0,9 мл физиологического раствора, перемешать).

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Приготовить и промаркировать соответствующим образом по 2 пробирки вместимостью 3,0 мл для контрольной сыворотки и для каждой калибровочной пробы, по 1 пробирке для контрольной (холостой) пробы и для каждого образца анализируемой сыворотки крови.

Внести в соответствующие пробирки по 25 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки; в пробирки для анализируемых проб внести по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки крови. Добавить во все пробирки, кроме пробирки с контрольной (холостой) пробой, по 450 мкл реагента 1 (буфер); в пробирку с контрольной (холостой) пробой внести 475 мкл дистиллированной воды. Тщательно перемешать содержимое всех пробирок и измерить величину оптической плотности (ОП) калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых проб сыворотки крови (ОП₁) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Добавить во все пробирки по 40 мкл реагента 2 (антисыворотка), тщательно перемешать пробы и инкубировать все пробирки при комнатной температуре в течение 5 мин (точно!), после чего измерить величину ОП калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых проб сыворотки крови (ОП₂) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность калибровочных проб (ОП₁ и ОП₂) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Рассчитать величину изменения оптической плотности калибровочных проб (ΔОП) по формуле:

$$\Delta \text{ОП} = \text{ОП}_2 - \text{ОП}_1$$

Построить на масштабно-координатной бумаге калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая на оси абсцисс (логарифмическая) значения концентрации IgM в калибровочных пробах, а на оси ординат (линейная) – значения соответствующих величин ΔОП калибровочных проб.

Измерить оптическую плотность анализируемых проб сыворотки крови (ОП₁ и ОП₂) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Рассчитать величину изменения ОП каждого анализируемого образца сыворотки крови по формуле:

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1$$

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Определить концентрацию IgM в анализируемых образцах сыворотки крови по калибровочному графику.

Образцы сыворотки крови с концентрацией IgM, превышающей 5,0 мг/мл, следует развести физиологическим раствором в 10 раз, повторить определение и полученный результат умножить на 10.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 5 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 2 года.

Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в темном месте не более 6 недель.

Калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8 °C не более 1 мес.

Приготовленные (разбавленные) калибровочные пробы, анализируемые пробы сыворотки крови пациентов и контрольную сыворотку можно хранить при температуре 2-8°C не более 5 сут.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Если концентрация IgM в анализируемой пробе превышает 5,0 мг/мл, необходимо анализируемый образец развести физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ, следует обращаться в ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д.27,

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, Москва, Научный проезд, д.14 а,

Тел.: (499)120-60-96.

Генеральный директор
ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н. Схоль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики
СПбГМУ им. И.П.Павлова,
доктор мед. наук, профессор



В.Л.Эмануэль

**Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью**
Всего 4 страницы

Ген. директор
Схолль-Энгберге Е.Н.

