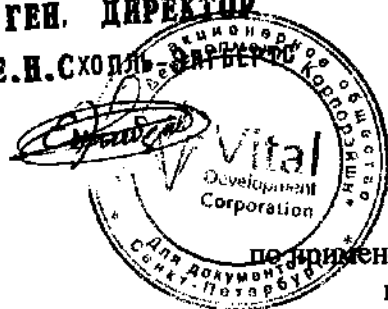


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ № _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕН. ДИРЕКТОР

Е.Н.СХОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС



Е.Н.Схолль-Энгбертс

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
иммуноглобулина G (IgG) в сыворотке крови
иммунотурбидиметрическим методом

(Иммуноглобулин G-ВИТАЛ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Иммуноглобулин G-ВИТАЛ предназначен для количественного определения концентрации иммуноглобулина G (IgG) в сыворотке крови человека иммунотурбидиметрическим методом в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Общий иммуноглобулин класса G (IgG) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 150 000 Да. IgG продуцируются плазматическими клетками (В-клетками) и составляют около 75% всех классов растворимых иммуноглобулинов сыворотки крови человека. Они составляют преобладающее большинство среди антител, синтезируемых в организме при вторичном иммунном ответе. Определение содержания IgG имеет важное значение для диагностики первичных и вторичных иммунодефицитов и миелом, при ревматоидном артрите и системной красной волчанке, а также заболеваниях печени и некоторых заболеваниях почек. Повышенное содержание IgG в крови может являться признаком наличия ряда хронических заболеваний и воспалительных процессов, а также воздействия неблагоприятных экологических факторов. IgG – это единственный иммуноглобулин, проникающий через плаценту, и поэтому он необходим для защиты новорожденных от инфекций.

Набор рассчитан для проведения 100, 200 или 400 определений при расходе 0,45 мл реагента 1 и 0,05 мл реагента 2 на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

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

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, 5 г/л; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию – 1 флакон (45 мл), 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 G; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию – 1 флакон (5,0 мл), 1 флакон (10 мл) или 1 флакон (20 мл);

- калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека с использованием препарата IgG человека, содержащие известные количества IgG: 0; 1,5; 6,0; 14; 20 и 27 мг/мл; калибровочные пробы откалиброваны по Международному стандарту IgG человека WHO 67/86; концентрации IgG в калибровочных пробах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины концентраций (при условии разведения в 10 раз) указаны на этикетках флаконов и в паспорте набора – 6 флаконов (по 0,5 мл);

- контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgG – 1 флакон (0,5 мл).

2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации IgG – в диапазоне от 1,5 до 27 мг/мл, отклонение от «линейности» - не более 10 %.

Чувствительность определения – не более 0,9 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 IgG в сыворотке крови составляют 6,8-16,5 мг/мл.

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

3. 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, противоэпидемического 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 5-40 мкл, 50-200 мкл, 200-100 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (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).

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.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внести в соответствующие пробирки по 10 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки; в пробирки для анализируемых проб внести по 10 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 460 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 50 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 ($ОП_1$ и $ОП_2$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Рассчитать величину изменения оптической плотности калибровочных проб ($\Delta ОП$) по формуле:

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1$$

Построить на масштабной-координатной бумаге калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая на оси абсцисс (логарифмическая) значения концентрации IgG в калибровочных пробах, а на оси ординат (линейная) – значения соответствующих величин $\Delta ОП$ калибровочных проб.

Измерить оптическую плотность анализируемых проб сыворотки крови ($ОП_1$ и $ОП_2$) 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 IgG в анализируемых образцах сыворотки крови по калибровочному графику.

Образцы сыворотки крови с концентрацией IgG, превышающей 27 мг/мл, следует развести физиологическим раствором в 10 раз, повторить определение и полученный результат умножить на 10.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор 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 IgG в анализируемой пробе превышает 27 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, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

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

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист -эксперт
по кл.н. лаб. диагностике Росздравнадзора
по СЗФО д.м.н. профессор



В.Л.Эмануэль

