

УТВЕРЖДЕНА

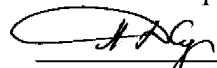
Приказом Росздравнадзора

от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусаинов
_____ 2013 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммунотурбидиметрического определения
концентрации ревматоидного фактора в сыворотке и плазме крови
«Ревматоидный фактор-Ново (латекс)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Ревматоидный фактор-Ново (латекс) предназначен для определения концентрации ревматоидного фактора (РФ) в сыворотке и плазме крови человека иммунотурбидиметрическим методом.

1.2. Набор выпускается в 6 вариантах комплектации:

Набор рассчитан:

- на 50 определений при расходе 0,8 мл реагента 1 на одно определение (вариант 1);
- на 100 определений при расходе 0,8 мл реагента 1 на одно определение (вариант 2);
- для проведения дополнительного определения концентрации РФ (вариант 3, без калибровочного образца);
- для проведения дополнительной калибровки (вариант 4, калибровочный образец);
- для проведения анализа на автоматических биохимических анализаторах (вариант 5 авто);
- для проведения дополнительного определения концентрации РФ на автоматических биохимических анализаторах (вариант 6 авто, без калибровочного образца).

Количество реагентов в вариантах 3 и 4 набора определяется согласованным с производителем техническим заданием потребителя.

Объём компонентов и их расфасовка в вариантах 5 авто и 6 авто набора определяется вместимостью картриджей для данной модели анализатора.

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: начальником отдела, к.б.н.

Электронная копия оформлена Центром испытаний и регистрации медицинских изделий им сотрудником К.А. Черемисиной.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Действие набора основано на взаимодействии ревматоидного фактора с человеческим гамма-глобулином с образованием преципитата, который рассеивает свет. Интенсивность рассеивания света преципитатом пропорциональна концентрации РФ в образце и определяется фотометрически при длине волны 660 (620-670) нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- реагент 1 (P1): трисовый буфер, 0,02 моль/л; натрия азид, 0,95 г/л – 1 флакон (40 мл) (вариант 1); 2 флакона (по 40 мл) (вариант 2); 1-6 флаконов (вариант 3); 1-6 картриджей или 1-6 флаконов (вариант 5 авто); 1-6 картриджей или 1-6 флаконов (вариант 6 авто);
- реагент 2 (P2): суспензия латексных частиц, покрытых человеческим гамма-глобулином, 5%; натрия азид, 0,95 г/л – 1 флакон (10 мл) (вариант 1); 2 флакона (по 10 мл) (вариант 2); 1-6 флаконов (вариант 3); 1-6 картриджей или 1-6 флаконов (вариант 5 авто); 1-6 картриджей или 1-6 флаконов (вариант 6 авто);
- калибровочный образец, на основе сыворотки крови человека с концентрацией ревматоидного фактора 160 МЕ/мл, аттестованный относительно WHO Rheumatoid arthritis serum W1066; концентрация РФ в калибраторе может несколько отличаться от указанной величины, точная величина указана на этикетке флакона и в паспорте; лиофилизированный – 1 флакон (варианты 1, 2); 1-5 флаконов (вариант 4) или 1-2 флакона (вариант 5 авто).

По согласованию с потребителем дополнительно поставляется:

- трафарет для построения калибровочного графика.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Специфичность определения РФ обусловлена использованием гамма-глобулина человека, взаимодействующего с РФ человека.

3.2. Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определений концентрации РФ в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием набора «Ревматоидный фактор-Ново (латекс)» не превышает 7%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации РФ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разбавлении их физиологическим раствором имеет линейный характер в диапазоне концентраций 10-160 МЕ/мл и составляет 93-107%.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации РФ предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца с концентрацией РФ 40 МЕ/мл. Процент «открытия» составляет 93-107%.

3.5. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация РФ не превышает 2,0 МЕ/мл.

3.6. Клиническая проверка. Концентрация РФ, измеренная в сыворотке (плазме) крови, взятой с 9 до 11 ч у 163 здоровых мужчин и женщин юго-восточного региона Западной Сибири в возрасте 20-50 лет, не превышала 30 МЕ/мл.

3.7. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации РФ у исследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. Реагент 1 и реагент 2 содержат токсическое соединение – натрия азид. При работе с этими реагентами следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и методических указаниях МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество анализа, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

- Спектрофотометр, полуавтоматический или автоматический биохимический анализаторы (длина волны 660 (620-670) нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм);
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 5-20 мкл и 100-1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5$ °C;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, гепаринизированная и ЭДТА плазма крови человека без следов гемолиза и липемии.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре $+18-25$ °C не более 8 ч, при температуре $+2-8$ °C не более 3 сут, при температуре минус 20 °C и ниже не более 4 недель.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1. Приготовление калибровочных образцов с концентрацией РФ 120; 80; 40; 20 и 10 МЕ/мл.

7.1.1. Восстановление калибровочного образца $КО_{160}$.

Восстановление калибровочного образца производится в соответствии с инструкцией: к содержимому флакона с калибровочным образцом добавить β мл* дистиллированной воды, растворить при осторожном перемешивании вручную и выдержать в течение 30 мин при температуре $+18-25$ °C.

*Примечание: точное значение β , мл, указано в паспорте и на этикетке флакона с калибровочным образцом.

Приготовленный калибровочный образец $КО_{160}$ можно хранить при температуре $+2-8$ °C не более 1 мес в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

7.1.2. Приготовление калибровочных образцов с концентрацией РФ 120; 80; 40; 20 и 10 МЕ/мл.

Приготовить разведения калибровочного образца $КО_{160}$, используя калибровочный образец $КО_0$ (см таблицу 1).

В качестве $КО_0$ использовать физиологический раствор.

Таблица 1

Отмерить, мкл	КО ₁₂₀	КО ₈₀	КО ₄₀	КО ₂₀	КО ₁₀
Калибровочный образец КО ₁₆₀	150	100	50	25	12,5
Калибровочный образец КО ₀ (физиологический раствор)	50	100	150	175	187,5

Приготовленные калибровочные образцы можно хранить при температуре +2-8 °С не более 7 сут в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

7.2. Перед началом работы кювету полуавтоматического или автоматического биохимического анализатора нагреть до температуры +37±0,5 °С. При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру +37±0,5 °С.

7.3. Проведение анализа на спектрофотометре и полуавтоматическом биохимическом анализаторе.

7.3.1. Измерение оптической плотности калибровочных образцов.

7.3.1.1. Измерение В₁₆₀ – оптической плотности калибровочного образца с концентрацией РФ 160 МЕ/мл.

В пробирку вместимостью 10 мл внести 8,0 мл реагента 1, в другую пробирку вместимостью 5,0 мл внести 2,0 мл реагента 2, выдержать не менее 5 мин при температуре +37±0,5 °С.

Отобрать 0,8 мл подогретого при температуре +37±0,5 °С реагента 1, внести в термостатируемую кювету спектрофотометра или полуавтоматического биохимического анализатора, поддерживающего температуру +37±0,5 °С. Добавить в кювету α мл (α – объем пробы, точное значение указано в паспорте) калибровочного образца КО₁₆₀ (см п. 7.1.1.) и далее добавить 0,2 мл реагента 2. Пробу перемешать и поместить в термостатируемое кюветное отделение спектрофотометра или полуавтоматического биохимического анализатора. Измерить оптическую плотность пробы через 2 мин (точно!) после добавления реагента 2 при длине волны 660 (620-670) нм в кювете с длиной оптического пути не менее 5 мм.

Повторить измерение, используя в качестве образца холостую пробу – дистиллированную воду (см таблицу 2).

Таблица 2

Отмерить, мкл	Калибровочная проба	Холостая проба
Реагент 1	800	800
Калибровочный образец 160 МЕ/мл	α	–
Дистиллированная вода	–	α
Реагент 2	200	200
α, мкл – объем пробы, точное значение указано в паспорте.		