

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



А.Г. Плехов

2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

«ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ»

ТУ 21.20.23-085-94568735-2019

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации иммуноглобулина М (IgM) в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» предназначен для количественного определения концентрации IgM в сыворотке крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» предназначен для лабораторной *in vitro* диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора – проведение анализа сыворотки крови человека с целью оценки гуморального иммунитета при острых и рецидивирующих заболеваниях различной этиологии, для диагностики иммунодефицитных состояний, для диагностики внутриутробных инфекций, для мониторинга состояния иммунной системы при аутоиммунных патологиях, заболеваниях крови и новообразованиях.

Иммуноглобулин М (IgM) – один из пяти классов иммуноглобулинов, составляет 5-10% от общего количества иммуноглобулинов в сыворотке крови, синтезируется В-лимфоцитами при первичном контакте с инфекционным агентом раньше, чем другие иммуноглобулины. В ответ на острую инфекцию IgM связывается с антигенами, опсонизирует и усиливает их фагоцитоз, активирует систему комплемента по классическому пути. Молекула IgM состоит из пяти субъединиц (пентамер), каждая из которых имеет по два антигенсвязывающих центра. IgM в связи с большой молекулярной массой (около 950 кДа) не способен проникать через гематоэнцефалический и плацентарный барьеры.

Повышение концентрации IgM наблюдается при острых бактериальных инфекциях (пневмония, менингит, пиелонефрит, сепсис), аутоиммунных заболеваниях (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, аутоиммунная гемолитическая анемия с холодowymi агглютинаинами), внутриутробных инфекциях (токсоплазмоз, цитомегаловирус), заболеваниях

печени (острый и хронический гепатит, биллиарный цирроз), онкологических заболеваниях (моноклональная гаммапатия IgM-типа, макроглобулинемия Вальденстрема).

Снижение концентрации IgM наблюдается при врожденной недостаточности (болезнь Брутона, селективный дефицит IgM), амилоидозе, после спленэктомии.

Изменение концентрации IgM наблюдается при синдроме приобретенного иммунодефицита человека.

1.3. Набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Набор выпускается в следующих вариантах исполнения:

Комплект 1:

- реагент 1 – 1 флакон (90 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (4 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 2:

- реагент 1 – 2 флакона (по 180 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (16 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 3:

- реагент 1 – 1 флакон (90 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (4 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл),
- контроль (высокий уровень) – 1 флакон (1 мл).

Комплект 4:

- реагент 1 – 1 флакон (90 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (4 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл) и 1 флакон (1,0 мл).

Комплект 5:

- реагент 1 – 2 флакона (по 180 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (16 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл) и 1 флакон (1,0 мл).

Комплект 6:

- реагент 1 – 1 флакон (39 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (6,5 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 7:

- реагент 1 – 3 флакона (по 39 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 6,5 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 8:

- реагент 1 – 1 флакон (14 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (2,7 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 9:

- реагент 1 – 3 флакона (по 14 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 2,7мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 10:

- реагент 1 – 1 флакон (52 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (7,5 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 11:

- реагент 1 – 3 флакона (по 52 мл),

- реагент 2 – 3 флакона (по 7,5 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 12:

- реагент 1 – 1 флакон (34,5 мл),

- реагент 2 – 1 флакон (6 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 13:

- реагент 1 – 4 флакона (по 34,5 мл),

- реагент 2 – 4 флакона (по 6 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл),

Комплект 14:

- реагент 1 – 2 флакона (по 31 мл),

- реагент 2 – 1 флакон (7,8 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл),

Комплект 15:

- реагент 1 – 2 флакона (по 28 мл),

- реагент 2 – 1 флакон (7 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Калибратор во всех вариантах исполнений – калибровочный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий IgM, точная концентрация указана в паспорте на набор и на этикетке флакона.

Контроль (высокий уровень) в комплекте 3 - контрольный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий IgM, целевое значение и допустимый интервал указаны в паспорте на набор и на этикетке флакона.

В состав комплектов 1, 2, 4-15 набора контроль (высокий уровень) не входит. При постановке анализа с помощью набора «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» могут быть использованы контрольные материалы (высокий/низкий уровни), аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

При использовании 0,04 мл реагента 2 на один анализ варианты исполнения набора рассчитаны на следующее количество анализов:

Комплект 1 – 100 определений,

Комплект 2 – 400 определений,

Комплект 3 – 100 определений,

Комплект 4 – 100 определений,

Комплект 5 – 400 определений,

Комплект 6 – 180 определений,

Комплект 7 – 540 определений,

Комплект 8 – 60 определений,

Комплект 9 – 180 определений,

Комплект 10 – 180 определений,

Комплект 11 – 540 определений,

Комплект 12 – 160 определений,

Комплект 13 – 640 определений,

Комплект 14 – 170 определений,

Комплект 15 – 150 определений.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. В результате иммунологической реакции формируются иммунные комплексы иммуноглобулина М с соответствующими антителами, и образуется мутная суспензия, оптическая плотность которой измеряется фотометрически при длине волны 340 нм. Реакция производится методом «по конечной точке» с холостой пробой по образцу. Концентрация IgM в анализируемых образцах прямо пропорциональна величине оптической плотности исследуемых образцов и определяется по калибровочному графику.

2.2. Набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» может быть использован на полуавтоматических или автоматических биохимических анализаторах с возможностью выполнения измерения при длине волны 340 нм (или двухволнового измерения при длинах волн 340 нм (основная) и 620 (670) нм (вспомогательная)) при температуре инкубации +18-25°C или +37°C.

Использование Набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: буфер (натрия фосфат двузамещенный 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л; полиэтиленгликоль, 5 г/л; натрия азид, 0,95 г/л), готов к использованию,
- комплект 1 - 1 флакон (90 мл),
- комплект 2 - 2 флакона (по 180 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (90 мл),
- комплект 4 - 1 флакон (90 мл),
- комплект 5 - 2 флакона (по 180 мл),
- комплект 6 - 1 флакон (39 мл),
- комплект 7 - 3 флакона (по 39 мл),
- комплект 8 - 1 флакон (14 мл),
- комплект 9 - 3 флакона (по 14 мл),
- комплект 10 - 1 флакон (52 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 52 мл),
- комплект 12 - 1 флакон (34,5 мл),
- комплект 13 - 4 флакона (по 34,5 мл),
- комплект 14 - 2 флакона (по 31 мл),
- комплект 15 - 2 флакона (по 28 мл).
- реагент 2: антисыворотка (натрия фосфат двузамещенный 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л; козы поликлональные антитела к IgM; натрия азид, 0,95 г/л), готова к использованию,
- комплект 1 - 1 флакон (4 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (16 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (4 мл),
- комплект 4 - 1 флакон (4 мл),
- комплект 5 - 1 флакон (16 мл),
- комплект 6 - 1 флакон (6,5 мл),
- комплект 7 - 3 флакона (по 6,5 мл),
- комплект 8 - 1 флакон (2,7мл),
- комплект 9 - 3 флакона (по 2,7 мл),
- комплект 10 - 1 флакон (7,5 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 7,5 мл),
- комплект 12 - 1 флакон (6 мл),
- комплект 13 - 4 флакона (по 6 мл),

- комплект 14 – 1 флакон (7,8 мл),
- комплект 15 – 1 флакон (7мл).

- калибратор: калибровочный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий иммуноглобулин М и натрия азид в качестве консерванта (0,95 г/л); точная концентрация IgM указана в паспорте на набор и на этикетке флакона, аттестован по стандартному материалу ERM-DA470k/IFCC, готов к использованию,

- все комплекты - 1 флакон (0,5 мл),
- комплекты 4 и 5 – дополнительно 1 флакон (1,0 мл).

- контроль (высокий уровень): контрольный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий иммуноглобулин М и натрия азид в качестве консерванта (0,95 г/л); целевое значение IgM и допустимый интервал указаны в паспорте на набор и на этикетке флакона, аттестован по стандартному материалу ERM-DA470k/IFCC, готов к использованию;

- комплект 3 - 1 флакон (1 мл).

Примечание:

1. Компоненты плазмы крови человека, входящие в состав калибратора и контроля (высокий уровень), являются продуктом глубокой переработки крови человека, инактивированной и протестированной на отсутствие антител к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg.

2. Материалы животного происхождения, входящие в состав реагентов, не представляют опасности для человека.

3. Метрологическая прослеживаемость калибратора и контроля (высокий уровень), входящих в состав набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» производится с использованием стандартного материала ERM-DA470k/IFCC, который является международно признанным калибратором. Метрологическая прослеживаемость калибратора и контроля (высокий уровень) осуществляется путем выполнения протокола переноса калибровки по стандартному материалу ERM-DA470k/IFCC с целью приписывания целевого значения калибратору и целевого значения и допустимого интервала контролю (высокий уровень), входящим в состав набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ».

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения IgM в сыворотке крови – в диапазоне 10-800 мг/дл (0,1-8 г/л).

Чувствительность определения концентрации IgM – 5 мг/дл (0,05 г/л).

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ»: гемоглобин до концентрации 2,3 г/л, триглицериды до концентрации 4,1 ммоль/л и билирубин до концентрации 270 мкмоль/л не влияют на правильность определения концентрации IgM.

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

Нормальные величины концентрации IgM в сыворотке крови человека составляют: для мужчин – 34–214 мг/дл (0,34-2,14 г/л), для женщин – 40–250 мг/дл (0,4-2,5 г/л).

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

Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ», установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови.

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, а образцы сыворотки должны быть освобождены от клеток крови центрифугированием. После центрифугирования сыворотка крови должна быть перенесена в отдельную пробирку.

Образцы можно хранить 2 суток при температуре +2-8°C или не более 4-х недель при температуре -18°C. Пробирки с образцами следует плотно закрывать. Повторное замораживание образцов не допускается. Не следует использовать липемичные образцы.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора содержат токсичное вещество – натрия азид. При работе с реагентами следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае их попадания на кожу и слизистые следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

При работе с набором и образцами сыворотки крови человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки и рассматривать их как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения измерения при длине волны 340 нм или двухволнового измерения при длинах волн 340 нм (основная) и 620 (670) нм (вспомогательная) при температуре инкубации +18-25°C или +37°C;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- микропробирки вместимостью 1,0-1,5 мл;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови нагреть до выбранной температуры +18-25°C или +37°C.

Подготовка образцов

Образцы сыворотки крови развести физиологическим раствором в 10 раз.

Подготовка контроля (высокий уровень)

Контроль (высокий уровень) развести физиологическим раствором в 10 раз.

Приготовление калибровочных растворов 1-7

Развести калибратор, входящий в состав набора, физиологическим раствором до концентрации 800 мг/дл (8 г/л). Развести полученный калибровочный раствор с концентрацией 800 мг/дл (8 г/л) физиологическим раствором до концентрации 600, 300, 100, 50 и 20 мг/дл (6, 3, 1, 0,5 и 0,2 г/л), тщательно перемешать. Для нулевой точки калибровки использовать физиологический раствор. Необходимо использовать не менее 7 точек.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 340 нм или двухволновое измерение (340/620 нм или 340/670 нм);

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +18-25°C или +37°C;

Фотометрирование: против воды или холостой пробы.

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1.

Отмерить, мкл	Опытная проба	Калибровочные пробы	Контрольная (холостая) проба
Реагент 1	450 мкл	450 мкл	450 мкл
Образец	25 мкл	-	-
Калибровочные растворы 1-7	-	25 мкл	-
Пробы тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту, измерить оптическую плотность ОП ₁ (холостая проба по образцу) против воды или холостой пробы и добавить во все пробирки реагент 2:			
Реагент 2	40 мкл	40 мкл	40 мкл

Пробы тщательно перемешать, инкубировать при выбранной температуре 5 минут (точно!), измерить оптическую плотность калибровочных и анализируемых проб ОП₂.

Примечание. Расход реагентов набора зависит от типа используемого прибора.

Для контроля правильности и воспроизводимости определения концентрации IgM использовать контроль (высокий уровень), входящий в состав комплекта 3 набора. Определение проводить в соответствии с процедурой анализа для опытных проб.

10. РАСЧЕТЫ

Оптические плотности (ΔОП) калибровочных проб рассчитать по формуле (1):

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1 \quad (1).$$

Построить калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая на оси абсцисс (логарифмическая) значения концентрации IgM в калибровочных пробах, а на оси ординат (линейная) – значения соответствующих оптических плотностей (ΔОП) калибровочных проб.

Концентрацию IgM в опытных пробах определить по калибровочному графику, откладывая по оси ординат изменение оптической плотности (ΔОП) соответствующей пробы.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения концентрации иммуноглобулина М (IgM) в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» должен храниться при температуре +2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 5 суток.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25°C не более 5 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Срок годности набора – 24 месяца. До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Набор реагентов не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°C не более 6 недель при условии достаточной герметичности флаконов.

Калибратор и контроль (высокий уровень) после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °C не более 4 недель при условии достаточной герметичности флаконов.

Реагенты 1 и 2 можно хранить на борту анализатора при температуре +2-8 °C не более 4 недель при условии круглосуточного охлаждения. Стабильность калибровки сохраняется не более 10 суток.

Приготовленные калибровочные растворы IgM можно хранить не более 1 недели при температуре +2-8°C в плотно закрытых пробирках (флаконах). Замораживание не допускается.

Разведенный физиологическим раствором контроль (высокий уровень) можно хранить не более 1 недели при температуре +2-8 °C в плотно закрытых пробирках (флаконах). Замораживание не допускается.

Если значение концентрации IgM в анализируемой пробе превышает 800 мг/дл (8 г/л), анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

Производитель набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» произвел верификацию и валидацию набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ». Результаты верификации и валидации, отраженные в протоколах предварительных испытаний опытных партий набора, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

В процессе верификации и валидации набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» была проведена оценка стабильности набора при хранении, использовании и транспортировке (ГОСТ Р ИСО 23640-2015); результаты, отраженные в протоколах стабильности набора и его компонентов, соответствуют заявленным срокам годности при хранении, использовании и транспортировке в соответствующих условиях.

В процессе разработки набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» были оценены риски, связанные с возможным изменением параметров проведения анализа в лабораториях потребителей: изменение температуры и времени инкубации.

Оценка проводилась в соответствии с МИ СМК 07 по ИСО 14971:2007. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ» для биохимических исследований разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора «ИММУНОГЛОБУЛИН М-ВИТАЛ», следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн») по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



А.Г. Плехов

П.К. Варнавичус

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего

листа(ов)

Ген. директор

Плехов А.Г.



ПРОШИТО

В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

«13» 12 2019 год

Ген. директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

Варнавичко П.К.

