

«СОГЛАСОВАНО»

Директор
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова

О.А. Свитич

« 30 » 10 2019 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления
регистрации
и медицинских исследований
АО «НПО «Микроген»

А.Е. Ершов

« 30 » 10 2019 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
по применению медицинского изделия
Поли-ИЭФ**

**Сыворотка для иммуноэлектрофореза
против сывороточных белков крови человека сухая по ТУ 21.20.21-147-20401675-2019**

Регистрационное удостоверение № ФСР2010/07984_

НАЗНАЧЕНИЕ

Изделие для диагностики *in vitro* предназначено для качественного определения иммуноглобулинов и различных белков в сыворотке крови и других биологических жидкостях человека методом иммуноэлектрофореза (ИЭФ).

Функциональное назначение – вспомогательное средство в диагностике.

Показания к применению изделия в соответствии с его назначением. Противопоказания при применении изделия согласно инструкции – отсутствуют.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

СОСТАВ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ЕГО КОМПОНЕНТОВ

Состав изделия:

Сыворотка для иммуноэлектрофореза против сывороточных белков крови человека – 10 ампул, лиофилизат из 1,0 мл

Характеристика компонентов изделия.

Сыворотка для иммуноэлектрофореза против сывороточных белков крови человека представляет собой иммунную сыворотку крови овец, иммунизированных нормальной сывороткой крови человека (пул не менее чем от 20 здоровых доноров). Внешний вид: пористая масса от беловато-серого до розовато-желтого цвета.

Комплектация: компоненты изделия (Сыворотка для иммуноэлектрофореза против сывороточных белков крови человека, 10 ампул, лиофилизат из 1,0 мл), инструкция по применению, паспорт (в комплекте поставки).

ПРИНЦИП МЕТОДА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Принцип метода иммуноэлектрофореза основан на способности белков сыворотки крови (антигенов) исследуемого образца перемещаться в агаровом геле под действием электрического поля и последующего их выявления путем специфического взаимодействия с преципитирующими антителами сыворотки для иммуноэлектрофореза, с образованием иммунных комплексов в виде

видимых линий преципитации.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Изделие Поли-ИЭФ Сыворотка для иммуноэлектрофореза против сывороточных белков крови человека сухая предназначено для лабораторной диагностики для однократного применения по назначению. Вид анализа – качественный.

Изделие предназначено для 45-50 определений в ИЭФ.

Ремонту и обслуживанию не подлежит. Монтаж, наладка, калибровка и прочие операции, необходимые для ввода МИ в эксплуатацию и его правильной эксплуатации не требуются.

Изделие является нестерильным. Изделие имеет один вариант исполнения. Модельный и типоразмерный ряд отсутствует.

Пользователями изделия могут быть медицинские специалисты лабораторий с высшим и средним специальным образованием, прошедшие специальную подготовку и допущенные к работе с патогенными микроорганизмами в соответствии с СП 1.3.2322-08.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Функциональные характеристики изделия: сыворотка для ИЭФ должна выявлять в реакции иммуноэлектрофореза с нормальной сывороткой крови человека не менее 15 линий преципитации в соответствующих зонах: в α -зоне – альбумин, α_2 -макроглобулин; в β -зоне – трансферрин, церулоплазмин; в γ -зоне – линии IgG, IgA, IgM и др. (рис. 2).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Изделие Поли-ИЭФ Сыворотка для иммуноэлектрофореза против сывороточных белков крови человека сухая является безопасным. Изделие не приносит вреда окружающей природной среде и здоровью человека при транспортировании, хранении, применении. Компоненты изделия являются негорючими, невзрывоопасными, не способными самовозгораться, не радиоактивными, нетоксичными, не обладают канцерогенным, мутагенным действием или отрицательно влияющим на репродуктивную функцию человека, в том числе не образуют токсичных соединений с другими веществами, не обладают кумулятивными свойствами.

Иммунная сыворотка крови овец получена от животных, прошедших ветеринарный контроль и находящихся под наблюдением специалиста.

Однако исследуемые образцы, а также их растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, следует рассматривать как потенциально инфицированные. При работе следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с:

- ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;
- СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (для бактериологических лабораторий

учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор и лечебно-профилактических учреждений);

- СП 1.3.2518-09 «Дополнения и изменения № 1 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;

- СП 1.3.2885-11 «Дополнения и изменения № 2 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

При работе с потенциально-инфицированными биологическими образцами, оборудованием, материалами, изделиями, находящимися с ними в контакте, следует соблюдать осторожность:

- работать в боксах биологической безопасности с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды, одноразовых резиновых перчаток, защитного экрана или очков);

- не пипетировать ртом;

- в случае пролива образцов и рабочих растворов на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекционную обработку с использованием дезинфицирующих средств, разрешенных к использованию на территории РФ;

- инструменты и оборудование (после работы) подвергать обработке с использованием дезинфицирующих средств и оборудования, разрешенных к использованию на территории РФ;

- избегать образования аэрозолей, попадания исследуемых образцов и их растворов, компонентов изделия в рот, их проглатывания, контакта с кожей и слизистыми оболочками;

- утилизировать все использованные материалы, а также их растворы, исследуемые образцы и их растворы в соответствии с действующими санитарными правилами и нормами.

Утилизация изделий, пришедших в негодность, с истекшим сроком годности и неиспользованных изделий осуществляется в соответствии с требованиями СП 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» как эпидемиологически безопасных отходов класса А.

Все сточные растворы (которые могут содержать биологические образцы), изделия после контакта с биологическими образцами как потенциально инфицированный материал, перед утилизацией следует обеззараживать в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» автоклавированием при температуре $(132 \pm 2)^\circ\text{C}$, $(2,0 \pm 0,2) \text{ кгс/см}^2$ ($(0,2 \pm 0,02) \text{ МПа}$) в течение 60 мин с последующей утилизацией в соответствии СП 2.1.7.2790-10 как эпидемиологически опасные отходы класса Б.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

МЕРЫ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИЗДЕЛИЯ

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- соблюдение условий хранения и транспортирования (изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима применению не подлежат);

– не использовать изделие при отсутствии на его упаковке соответствующей маркировки, нарушении целостности упаковки компонентов;

– не использовать изделие с истекшим сроком годности;

– для отбора исследуемых образцов и реагентов набора необходимо использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5 %;

– отбор реагентов следует производить чистыми наконечниками для автоматических пипеток.

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Оборудование:

– прибор для иммуноэлектрофореза с выпрямителем электрического тока;

– весы лабораторные;

– плитка электрическая;

– рН-метр;

– предметный столик с регулируемым уровнем;

– дозаторы (пипетки) для внесения жидкостей переменного объема от 10 мкл до 1000 мкл с наконечниками полипропиленовыми 5 – 200 мкл, 200 – 1000 мкл;

– влажная камера;

– холодильник, обеспечивающий температуру $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$;

Материалы и реагенты:

– вода очищенная;

– натрия хлорид;

– кислота борная х.ч.;

– натрий тетраборнокислый 10-водный ч.д.а.;

– агар;

– мертиолят (тиомерсал, тимеросаль, 2-этилртутьтиосалицинат натрия);

– пиронин Б;

– амидо черный 10Б;

– кислота уксусная х.ч. ледяная;

– глицерин ч.д.а.;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– перчатки одноразовые;

– пластины стеклянные размером (90×120) мм;

– посуда мерная (стаканы, колбы, цилиндры) вместимостью от 100 до 1000 мл;

– карандаш по стеклу;

- емкость для обеззараживания;
- дезинфицирующие растворы.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Тип анализируемого образца – сыворотка крови человека, биологические жидкости человека (плазма, лимфа, ликвор, амниотическая жидкость, сыворотка пуповинной крови).

Сбор, хранение и транспортирование образцов, содержащих биологический материал, должны осуществляться с учетом требований действующих санитарных правил и норм.

Анализируемые образцы до момента использования хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 7 суток или при температуре не выше минус 18 °С не более 1 года. Замороженные образцы перед использованием следует разморозить и тщательно перемешать встряхиванием. Повторное замораживание не допускается.

Все исследуемые образцы должны иметь четкую маркировку (идентификацию).

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ И РАСТВОРОВ

Подготовка сыворотки для иммуноэлектрофореза

Ампулы с сывороткой для ИЭФ вскрыть и растворить содержимое каждой в 1,0 мл воды очищенной. Приготовленные растворы допускается хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 30 суток или при температуре не выше минус 18 °С не более 1 года в герметично закрытых флаконах (микропробирках). Замороженные растворы перед использованием следует разморозить и тщательно перемешать встряхиванием. Допускается до 3-х замораживаний.

Приготовление боратного буферного раствора 0,05 М рН (8,6±0,1).

6,7 г кислоты борной, 13,4 г натрия тетраборнокислого 10-водного перенести в колбу мерную, довести объем раствора до метки 1000 мл водой очищенной, перемешать до полного растворения. рН раствора определять потенциометрически в соответствии с инструкцией по эксплуатации рН-метра. Приготовленный боратный буферный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 6 месяцев.

Перед заливкой буфера в электродные камеры прибора для иммуноэлектрофореза, его следует развести водой очищенной в 2 раза.

Приготовление натрия хлорида раствора 0,9 %.

9 г натрия хлорида перенести в колбу мерную, довести объем раствора до метки 1000 мл водой очищенной, перемешать до полного растворения. Приготовленный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца.

Приготовление агарового геля 1 %.

Количество агарового геля рассчитывают исходя из количества пластин. 1 г агара перенести в стакан, 2-3 раза промыть водой очищенной, затем варить на кипящей водяной бане в 50 мл воды очищенной до полного растворения. Сваренный агар перелить в цилиндр мерный, довести объем раствора до метки 100 мл подогретым боратным буферным раствором 0,05 М рН (8,6±0,1), внести

0,1 г мертиолята, перемешать. Агаровый гель должен быть однороден, прозрачен и не должен содержать механических примесей. Готовый агаровый гель перелить во флакон, после застывания хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 3 месяцев.

Приготовление раствора пиронина Б 0,1 %.

0,1 г пиронина Б перенести в колбу мерную, довести объем раствора до метки 100 мл водой очищенной, перемешать до полного растворения. Приготовленный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 6 месяцев.

Приготовление красящего раствора.

1 г амидо черного 10 Б перенести в колбу мерную, добавить небольшое количество воды очищенной, затем 70 мл кислоты уксусной, довести объем раствора до метки 1000 мл водой очищенной, перемешать. Приготовленный раствор хранить в бутылки из темного стекла при комнатной температуре не более 1 года.

Приготовление раствора для отмывки агарового геля.

В мерную колбу налить 25 мл кислоты уксусной, 20 мл глицерина, довести объем раствора до метки 1000 мл водой очищенной, перемешать. Приготовленный раствор хранить в бутылки из темного стекла при комнатной температуре не более 6 месяцев.

Заливка стеклянных пластин агаровым гелем.

На уравновешенный с помощью уровня предметный столик установить стеклянные пластины (90×120) мм. Расплавленный и охлажденный до температуры (55±5) °С агаровый гель 1 % осторожно вылить на стеклянные пластины, из расчета 20 мл расплавленного агара на пластину. После застывания агара через 20-30 мин образуется слой толщиной 1-2 мм.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ (АНАЛИЗА)

Иммуноэлектрофорез (ИЭФ)

Пластины с залитым агаровым гелем 1 % установить в прибор для ИЭФ. Агаровый гель на пластинах соединить с буферным раствором в электродных камерах прибора с помощью фильтровальной бумаги, сложенной в 5-6 слоев.

В случае конструкции прибора для ИЭФ, где агар на пластинах соединен с буферным раствором в электродных камерах с помощью агаровых столбиков, пластины установить в уравновешенный прибор и залить расплавленным агаром до соединения агара с агаровыми столбиками и образования агарового слоя толщиной в 1-2 мм.

В слое агара пробить лунки, используя для этого специальный штамп, а после проведения электрофореза вырезать поперечные канавки (рис. 1).

После удаления из лунок агара, заполнить их с помощью пипеточного дозатора контрольной сывороткой крови человека и анализируемыми образцами. В одну из лунок внести краситель – раствор пиронина Б 0,1 % (для контроля продвижения фракций).

Прибор для ИЭФ накрыть крышкой с платиновыми электродами и подсоединить к

выпрямителю электрического тока. Электрофорез проводить при напряжении 70-150 В и силе тока 10-50 мА в течение 2-3 ч. Электрофорез остановить, когда пятно пиронина, соответствующее миграции альбумина, будет находиться на расстоянии 20-25 мм от лунки.

После проведения электрофореза извлечь пластины из прибора. В канавки с помощью пипеточного дозатора внести сыворотку для ИЭФ. Затем пластины поместить во влажную камеру и инкубировать в холодильнике при температуре $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ в течение 36-48 ч.

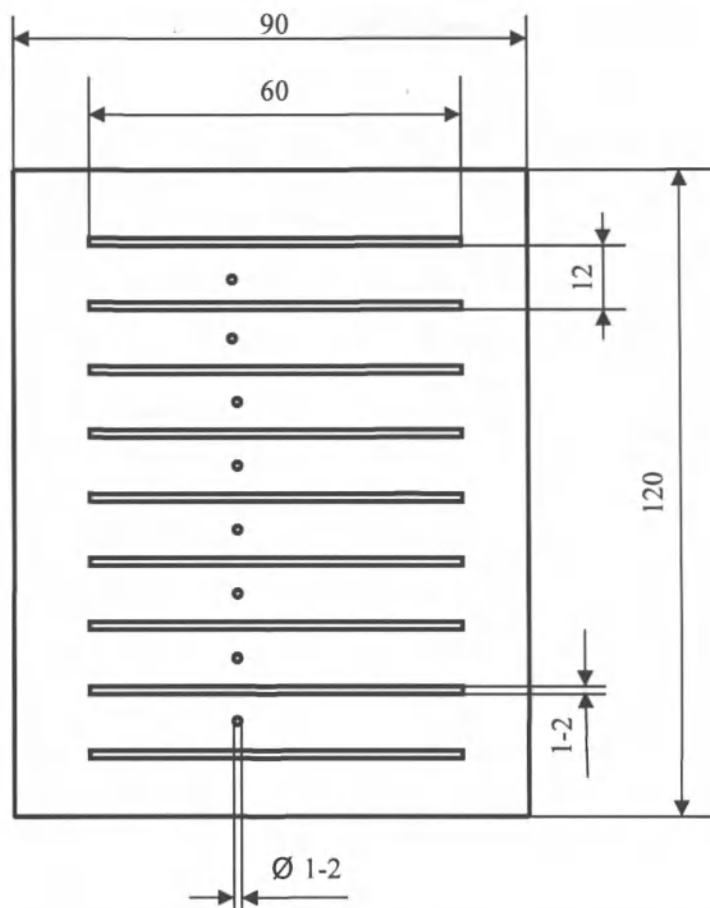


Рис. 1. Схема расположения лунок и канавок при постановке ИЭФ.

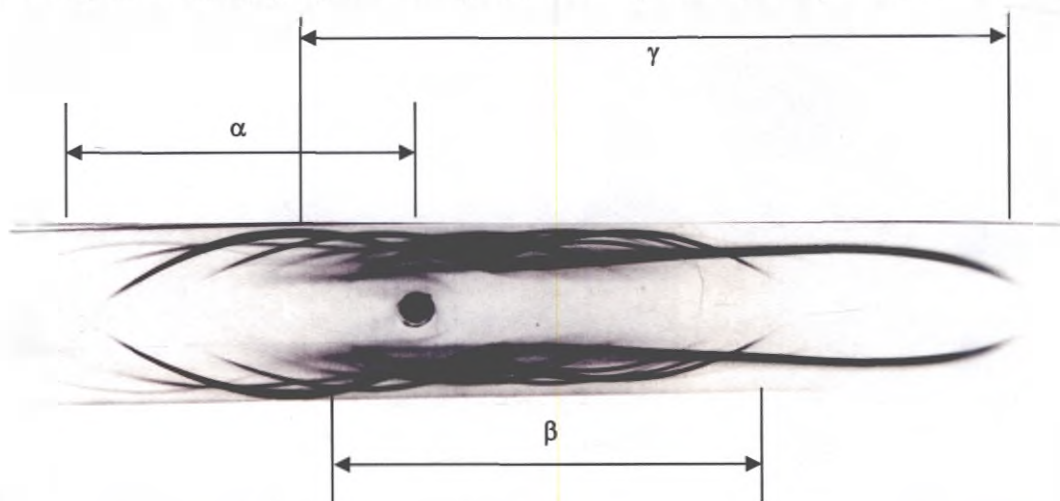
Учет результатов ИЭФ.

Проводят визуально. После инкубации в агаровом геле образуются линии преципитации (рис. 2).

Пластины с агаром можно фотографировать контактным методом или в проходящем свете или высушивать и окрашивать раствором амидо черного 10Б или раствором Кумасси G-250. Для этого пластины поместить в кюветы, залить раствором натрия хлорида 0,9 % и выдержать в течение 16-18 ч для отмывания от непреципитировавших белков. Затем пластины с агаровым гелем накрыть бумагой фильтровальной, смоченной в растворе натрия хлорида 0,9 %, и высушить на воздухе до превращения агарового геля в тонкую пленку. С высушенных пластин снять бумагу фильтровальную и поместить их в кюветы с красящим раствором на 30-40 мин. Затем пластины отмыть в растворе для отмывки агарового геля после окрашивания в течение

5-10 мин и снова высушить.

Рис. 2. Иммуноэлектрофореграммы: в лунках – контрольная сыворотка крови человека, в



УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 14 сут.

Хранение в упаковке изготовителя в течение всего срока годности при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте.

Хранение компонентов после вскрытия ампул см. инструкцию по применению раздел «Подготовка компонентов и растворов».

Срок годности – 3 года со дня приемки. Изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

Рекламации по вопросам, касающимся качества и обращения изделия Поли-ИЭФ Сыворотка для иммуноэлектрофореза против сывороточных белков крови человека сухая в течение срока годности с обязательным указанием серии и даты изготовления следует направлять в адрес Акционерное общество «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» (АО «НПО «Микроген»): Россия, 115088, г. Москва, 1-ая Дубровская ул., д. 15, строение 2, тел. (495) 710-37-87, e-mail: info@microgen.ru и в адрес производства: Россия, 603006, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, ул. Грузинская, д. 44, тел. (831) 434-42-77.

Взамен инструкции утвержденной 05.04.2018 г.

Прочито, пронумеровано и
скреплено печатью
листа(ов)



НАЧ. ПЬНИК
УПРАВЛЕНИЯ РЕГИСТРАЦИИ
И МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ЦЕНТРА
«МИКРОГЕН»
А. Е. Ершов