

«УТВЕРЖДАЮ»

**Заместитель генерального директора
ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические системы»**

О.Н.Шлюдин

2012 г.



**ИНСТРУКЦИЯ
по применению
набора реагентов
«ДС-ЭРИТРО-МИОГЛОБИН»
Эритроцитарный диагностикум
иммуноглобулиновый, лиофилизированный
для выявления миоглобина**

Разработана впервые

Содержание

I. Назначение	3
II. Состав набора.....	3
III. Аналитические и диагностические характеристики набора	3
IV. Меры предосторожности	3
V. Инструкции по безопасности	3
VI. Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов	4
VII. Отбор и подготовка образцов.....	4
VIII. Подготовка реагентов.....	4
IX. Проведение РОПГА.....	4
X. Учет результатов.....	5
XI. Срок годности. Условия хранения и транспортирования.....	5
XII. Объяснение символов.....	6

Набор выпускается в одном комплекте. Набор рассчитан на проведение 60 определений.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ДС-ЭРИТРО-МИОГЛОБИН» предназначен для полуколичественного выявления миоглобина в сыворотке, плазме, гемолизированной крови и других биологических жидкостях (моче при инфаркте миокарда, нервно-мышечной патологии, диффузных заболеваниях соединительной ткани, ишемии и сдавлении мышц, травмах, тяжелых физических нагрузках) в реакции обратной пассивной гемагглютинации (РОПГА).

II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ЭРИТРО-МИОГЛОБИН»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
СЭ (сенсibilизированные эритроциты) - формализированные куриные эритроциты, сенсibilизированные козьими антителами против миоглобина, лиофилизированные в сахарозо-альбуминовой среде. Сухая пористая масса коричневого цвета.	9 фл.
Стандартный миоглобин – выделенный из скелетных мышц человека, лиофилизированный. Сухая пористая масса белого или желтоватого цвета.	1 фл.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению.

III. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Сенсibilизированные эритроциты должны агглютинироваться сывороткой крови, содержащей миоглобин, и не давать реакцию гемагглютинации с гемоглобином и альбумином.

IV. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий и смешивать их в процессе приготовления растворов.
- Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию тепла или света во время хранения.

V. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики “in vitro”.
- При работе с реагентами набора и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

• После проведения реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализационную трубу. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам и флаконы из-под реагентов) должны быть обеззаражены погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезинфекции – не менее 1 ч. Допустимо применение другого разрешенного к применению дезинфицирующего средства. Твердые отходы также следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа). Жидкие отходы следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.

VI. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Автоматические пипетки переменного объема (одно- или многоканальные).
- Одноразовые наконечники к пипеткам.
- Планшеты полистироловые с «V»- или «U»-образным профилем лунок.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Перчатки медицинские.

VII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для исключения ложных результатов исследуемые образцы необходимо отбирать и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Каждый образец необходимо отбирать новым наконечником. Отобранные образцы допустимо хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 48 часов. Образцы с бактериальным ростом могут дать ложный результат.

VIII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты, требующие предварительного приготовления:

СЭ – сенсibilизированные эритроциты. Содержимое флакона с лиофилизированными СЭ развести добавлением 2,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида за 2 часа до начала постановки РОПГА.

Стандартный миоглобин – содержимое флакона развести 0,9% раствором натрия хлорида в количестве, указанном на этикетке, за 2 часа до начала постановки РОПГА. Концентрация миоглобина в полученном растворе – 10 мкг в 1 мл (10 000 нг/мл).

2. Хранение неиспользованных реагентов

Оставшийся неиспользованным СЭ хранить в растворенном виде во флаконе, укупоренном пробкой, не более 5 суток при температуре от 2 до 8 °С, стандартный миоглобин хранить в растворенном виде во флаконе, укупоренном пробкой, не более 5 суток при температуре от 2 до 8 °С.

IX. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Определение миоглобина в исследуемом образце следует проводить в полистироловых планшетах с «V»- или «U»-образным профилем лунок.

Планшеты должны быть тщательно вымыты, ополоснуты дистиллированной водой и высушены (планшеты, ранее не использовавшиеся, допустимо ополоснуть несколько раз дистиллированной водой с последующим высушиванием).

В случае необходимости проверки годности диагностикума следует провести контрольное определение со стандартным миоглобином: в 24 лунки планшета следует внести по 50 мкл 0,9% раствора натрия хлорида, затем в первую лунку добавить 50 мкл раствора миоглобина и провести его титрование. Две последние лунки являются контрольными. Затем во все лунки внести по 25 мкл взвеси СЭ. Содержимое лунок перемешать в течение 0,5-1 минуты, тщательно постукивая по краям планшета до образования в лунках равномерной суспензии эритроцитов (не допуская при

этом расплескивания содержимого) и оставить при температуре от 18 до 24 °С. Через 20-30 минут следует провести учет результатов. Наличие полной или частичной агглютинации эритроцитов в первых 12-13 лунках свидетельствует о пригодности диагностикума к работе. В остальных и контрольных лунках агглютинация должна отсутствовать (в редких случаях в РОПГА может наблюдаться эффект «прозоны» - появление осадка эритроцитов в виде компактной точки в первых нескольких лунках планшета и выраженная агглютинация эритроцитов в последующих лунках, данный эффект не искажает результатов анализа).

Исследование образцов

В 12 лунок планшета внести по 50 мкл 0,9% раствора натрия хлорида, затем в первую лунку добавить 50 мкл исследуемого образца и провести его титрование (последовательное перенесение 50 мкл раствора образца из лунки в лунку), в результате которого будут получены разведения: 1:2; 1:4; 1:8; 1:16 и т.д.

В последнюю лунку, являющуюся контрольной, образец не добавлять!

Затем в каждую лунку внести по 25 мкл тщательно ресуспендированных СЭ. Содержимое лунок перемешать и оставить на 20-30 минут при температуре от 18 до 24 °С, после чего провести учет результатов.

Х. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов реакции основан на принципе:

«+» - полная агглютинация - равномерно распределенный по дну и стенкам лунки осадок эритроцитов в виде зонтика с ровными краями.

«±» - частичная агглютинация - рыхлый с фестончатыми краями осадок эритроцитов в виде зонтика, занимающего более 1/3 и более площади лунки, в центре возможно образование слабо выраженной точки эритроцитов.

«-» - отсутствие агглютинации - компактный осадок эритроцитов в виде точки или небольшого кольца на дне лунки (последнее чаще наблюдается на планшетах с «U»-образным профилем лунок); осадок эритроцитов в виде точки, окруженной кольцом агглютинированных эритроцитов, занимающих менее 1/3 площади лунки, рассматривается как отрицательный результат.

Полуколичественный учет результатов проводится на основании визуальной оценки наличия гемагглютинации в зависимости от степени разведения исследуемого образца (титра).

В контрольной лунке агглютинация должна отсутствовать.

Величину титра миоглобина следует определить по формуле:

$$T = C / A,$$

где: C – концентрация миоглобина в первой лунке (10000 нг/мл);

A – чувствительность определения миоглобина, последнее разведение, в котором выявлена полная или частичная агглютинация.

Например, последняя лунка (n), в которой выявлена агглютинация - 13, концентрация Стандартного миоглобина 10 мкг/мл (10 000 нг/мл): $T = C/A$, где $A = C/2^n = 10\,000\text{ нг/мл} : 2^{13} = 1,2\text{ нг/мл}$, тогда титр составляет 1:8192.

Величина титра миоглобина в крови в норме не превышает 1:64, в моче здоровых лиц миоглобин не определяется.

XI. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора - 24 месяца. После истечения срока годности набор использованию не подлежит.

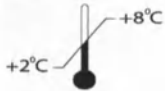
Транспортирование наборов должно производиться при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С в течение 10 сут. Замораживание не допускается.

Набор должен храниться в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Хранить в недоступном для детей месте.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12.

ХИ. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования
	Производитель
	Каталожный номер
	Количество определений
	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению

Директор по производству
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»

В.К. Пименов

Подпись В.В. Долгов
удостоверяю:
Специалист по кадрам РМАПО
Подпись В.К. Пименов
"09" 09 2012 года

СОГЛАСОВАНО
Зав.кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГБОУ ДПО РМАПО Минздравсоцразвития России
д.м.н, профессор



В.В. Долгов