

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «ЭКОлаб»

В.Ю. Борисов

« 8 » - 06 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная
для выявления иммуноглобулинов класса М
к респираторно-синцитиальному вирусу»
«ИФА-РСВ-IgM»

Регистрационное удостоверение № _____ от _____

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к респираторно-синцитиальному вирусу» «ИФА-РСВ-IgM» предназначен для выявления видоспецифических иммуноглобулинов класса М к респираторно - синцитиальному вирусу (РСВ) в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	лизатный инактивированный очищенный антиген респираторно-синцитиального вируса (РСВ), сорбированный на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном (используются "ломающиеся" стрипы)	1 планшет
<i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)</i>		
Контрольный положительный образец (K^+)	инактивированный; содержит иммуноглобулины класса М к респираторно-синцитиальному вирусу; прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (1,2 мл)
Контрольный образец уровня "среза" ($K^+_{пор}$)	инактивированный; содержит иммуноглобулины класса М к респираторно-синцитиальному вирусу в "пороговом" титре 1:100; прозрачная жидкость желтого цвета	1 фл. (1,2 мл)
Контрольный отрицательный образец (K^-)	инактивированный; не содержит иммуноглобулины класса М к респираторно-синцитиальному вирусу; прозрачная жидкость зеленого цвета	1 фл. (1,2 мл)
Конъюгат	антитела моноклональные мышинные против иммуноглобулинов человека класса М, меченые пероксидом хрена; прозрачная розового цвета жидкость	1 фл. (13 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная жидкость синего цвета	1 фл. (15 мл)
Раствор для предварительного разведения образцов (РПРО)	прозрачная жидкость розового цвета	1 фл. (15 мл)
Блокирующий раствор (БР)	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (7,5 мл)
25-кратный концентрат	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пе-	2 фл.



промывочного раствора [ПР(х25)]	нящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	(по 40 мл)
Раствор индикаторный (РИ);	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (13 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12,5 мл)

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ПР(х25), РИ, РРО, РПРО, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

Набор дополнительно укомплектован принадлежностями:

вспомогательным планшетом для предварительного разведения образцов (2 шт.),

вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),

одноразовыми наконечниками для автоматических пипеток (16 шт.),

клеякой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации набора позволяет одномоментное исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется от 3 до 6 лунок, одна лунка – для определения уровня "бланк"). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Лунок для контр.	4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Число иссл. обр.	1-4	5-9	10-17	18-25	26-33	34-41	42-49	50-57	58-65	66-73	74-81	82-89

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце иммуноглобулинов класса М к РСВ происходит связывание их с антигенами РСВ, сорбированными в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс антиген-антитело реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgM человека, мечеными пероксидазой. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с субстратно-индикаторным раствором, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка крови человека объемом не менее 10 мкл.

Образцы сыворотки крови до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и 3 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность набора определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия (СОП⁺-220), содержащих иммуноглобулины класса М к респираторно-синцитиальному вирусу, как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия (СОП⁻-220), не содержащих иммуноглобулины класса М к респираторно-синцитиальному вирусу, как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора:

Заключение	Общее число клинических образцов с истинно положительными результатами анализа (n)	Негативный результат	Позитивный результат	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)
Положительных по иммуноглобулинам класса М к респираторно-синцитиальному вирусу	300	0	300	99,01%-100%

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Заключение	Результаты испытаний
		Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови	Выявлены иммуноглобулины класса М к респираторно-синцитиальному вирусу	99,01% - 100%

Диагностическая специфичность набора:

Заключение	Общее число клинических образцов с истинно отрицательными результатами анализа (n)	Негативный результат	Позитивный результат	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
Отрицательных по иммуноглобулинам класса М к респираторно-синцитиальному вирусу	300	300	0	99,01% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Заключение	Результаты испытаний
		Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови	Не выявлены иммуноглобулины класса М к респираторно-синцитиальному вирусу	99,01%-100%

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).



РРО, РПРО содержат натрия азид в конечной концентрации 0,01 %. Данная концентрация является безопасной¹

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

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".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин, термостат на 37 °С, холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Анализатор иммуноферментный автоматический.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Предварительное разведение исследуемых образцов

Исследуемые образцы развести 1:10 во вспомогательном планшете. Для этого внести в его лунки по 90 мкл РПРО и добавить по 10 мкл сыворотки, тщательно перемешать пипетированием. При этом розовый цвет должен измениться на желтый. Если изменение цвета не произошло, данный образец необходимо исследовать повторно с целью исключения неправильных результатов.

Приготовление рабочих разведений исследуемых образцов

В лунки вспомогательного планшета внести 60 мкл РРО и добавить 75 мкл блокирующего раствора (БР), тщательно перемешать. Добавить 15 мкл предварительно разведенной (1:10) сыворотки в каждую лунку (конечное разведение образца 1:100), тщательно перемешать пипетированием и выдержать 30 мин при температуре от 21 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ПР)

При выпадении осадка солей в ПР(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При постановках с использованием ИФА -анализаторов 80 мл ПР(х25) довести водой очищенной до 2 л.

При дробной "ручной" постановке использовать соотношения объемов ПР(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

¹ ПЛКВ = 0,05 мг/л (по азид-иону) http://toxi.dyndns.org/base/nonorganic/Nitrogenium1/Azid_natrija.htm



Таблица 1

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ПР(х25), мл	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 14 сут.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, K^+ , K^- , K^+ _{пор}, РРО, РПРО, конъюгат, БР, РИ, стоп-реагент – готовы к применению.

Проведение ИФА ("ручная" постановка)

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из упаковки рамку планшета и необходимое число стрипов. Неиспользованные стрипы допускается хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

2. В лунку А1 внести 100 мкл РРО, в следующие лунки внести по 100 мкл контрольных образцов (по 1 лунке на каждый контрольный образец), оставшиеся лунки использовать для исследуемых образцов (по 1 лунке на образец), для чего внести в них: по 100 мкл предварительно подготовленных рабочих разведений исследуемых образцов, (см. раздел «*Приготовление рабочих разведений исследуемых образцов*»), тщательно перемешать пипетированием.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой, инкубировать 30 мин при температуре от 21 до 25°С в защищенном от света месте.

4. С помощью промывателя удалить содержимое лунок, 4 раза промыть планшет промывочным раствором, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

5. Во все лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата.

6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой, инкубировать 30 мин при температуре от 21 до 25°С в защищенном от света месте.

7. С помощью промывателя удалить содержимое лунок, 4 раза промыть планшет как указано в п. 4.

8. Во все лунки внести по 100 мкл раствора индикаторного, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и инкубировать 10-15 мин при температуре от 21 до 25°С.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился субстратно-индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 10 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по лунке А1.

При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

среднее значение ОПК+ – не менее 0,60;

среднее значение ОПК+пор – не менее 0,20;

среднее значение ОПК- – не более 0,15.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Качественный учет результатов

Исследуемые образцы учитывать:

как положительные при $ОПобр > 1,1 \times ОПК + пор$;

как отрицательные при $ОПобр < 0,9 \times ОПК + пор$.

Образцы с ОПобр, равной $ОПК + пор$ или отличающейся от $ОПК + пор$ не более чем на 10 %, рекомендуется исследовать повторно; при повторении "сомнительного" результата необходимо дополнительное обследование пациента.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

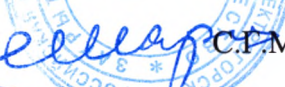
Замораживание не допускается. Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

По вопросам, касающимся качества и обращения набора «ИФА-PCB-IgM», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе  С.Г. Марданлы

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

«___» _____ 201__ г.



КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

(ИФА-PCB-IgM)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести	в лунку A1 – 100 мкл РРО, в лунку B1 - 100 мкл K ⁺ , в лунки D1 - 100 мкл K ⁺ _{пор} в лунки F1 – 100 мкл K ⁻ , в остальные лунки – по 100 мкл образцов (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов»)
Инкубация	30 мин, 21-25 °C
Промыть	4 раза промывочным раствором
Внести	во все лунки по 100 мкл конъюгата
Инкубация	30 мин, 21-25 °C
Промыть	4 раза промывочным раствором
Внести	по 100 мкл раствора индикаторного в каждую лунку
Инкубация	10-15 мин, 21-25 °C
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по лунке A1

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

« 8 » 06 2017 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМТЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

7 лист 06
Начальник ОНД ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
" 8 " 06 2016 г.