

с 40
05.12.2013
ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса М к вирусу
краснухи методом «захвата»
в сыворотке (плазме) крови

Рубелла-ІgМ-ІФА-БЕСТ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 25.12.2013
приказом Росздравнадзора № 7547-Пр/13

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-2560

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Рубелла-IgM-ИФА-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата», и может быть использован для диагностики первичного инфицирования вирусом краснухи.

1.2. Использование наборов реагентов для определения IgM, основанных на методе «захвата» (capture-вариант), позволяет избежать ложноположительных результатов, связанных с присутствием в испытуемом образце ревматоидного фактора класса М, тем самым повышая специфичность определения.

1.3. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли, допускается 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

В лунках планшета при добавлении исследуемого образца во время первой инкубации происходит связывание иммуноглобулинов класса М с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к IgM человека.

Во время второй инкубации связавшиеся IgM к вирусу краснухи взаимодействуют с до-

D-2560

3

бавленным в лунки антигеном вируса краснухи, конъюгированным с пероксидазой хрена.

Количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgM к вирусу краснухи в анализируемом образце.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов, «ломающихся» по 1 лунке) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к IgM человека, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K+) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей IgM к вирусу краснухи, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K-) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий IgM к вирусу краснухи, готовый для использования – 1 флакон (3,0 мл);
- конъюгат антигена вируса краснухи с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – 1 флакон (10 мл);

- раствор для разведения сывороток (PPC) – 1 флакон (12 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 флакона (по 28 мл);
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночкой для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 5–200 мкл – 16 шт.

По согласованию с потребителем дополнительно поставляется:

планшет для предварительного разведения образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность

3.1.1. Чувствительность выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи – соответствие результатов качественного определения набором IgM к вирусу краснухи требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-92), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: значения оптической плотности в лунках с положительными сыворотками $ОП_{№9-№16} \geq ОП_{крит}$;

3.1.2. Специфичность выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи -- соответствие результатов качественного выявления набором IgM к вирусу краснухи требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-92), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: значения оптической плотности в лунках с отрицательными сыворотками $OP_{\text{№1-№8}} \leq 0,8 \times OP_{\text{крит}}$.

Сравнительная характеристика наборов реагентов, основанных на непрямом методе ИФА и методе «захвата», по чувствительности и специфичности на разных панелях сывороток приведена в таблице.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (ГОСТР 51609-2000).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок 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 профилак-

Панель сывороток	Метод непрямого ИФА		Рубелла-IgM-ИФА-БЕСТ (ИФА, метод «захвата»)	
	Количество положительных результатов	Количество отрицательных результатов	Количество положительных результатов	Количество отрицательных результатов
Панель №1, состоящая из сывороток от больных краснухой, (n=32)	32	0	32	0
Панель №2, состоящая из сывороток доноров, (n=192)	2	190	0	192
Панель №3, состоящая из сывороток, содержащих ревматоидный фактор класса М, (n=48)	5	43	0	48
Панель №4, состоящая из сывороток беременных и зараженных ВИЧ пациентов, «фонящих» в наборе реагентов, основанном на непрямом методе ИФА	14	0	1	13

тики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических уч-

реждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаний 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 сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других 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 посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

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 вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 5–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкости от 5 до 350 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- флаконы вместимостью 10–15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 6 мес.

Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов.

После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, следует выдержать при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и довести до соответствующего объема дистиллированной водой. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

7.4. Подготовка положительного и отрицательного контрольных образцов

Положительный и отрицательный контрольные образцы готовы к использованию.

Контрольные образцы после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

Таблица расхода реагентов

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, мл	Дистил- лированная вода, мл		
1	2,0	до 50	1,0	1,0
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

7.5. Предварительное разведение исследуемых образцов

В лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток (РПРС) и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать. При разведении сыворотки красный цвет

12

D-2560

должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет образца меняется незначительно.

Предварительно разведенные исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.

7.6. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать (*не сливать во флакон с исходным конъюгатом*).

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента и поместить в защищенное от света место.

D-2560

13

Оставшийся после проведения ИФА раствор метраметилбензида утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).

Раствор ТМБ после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. В две лунки, например, А-1 и В-1, внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (К⁻). В одну лунку, например, С-1, внести 100 мкл положительного контрольного образца (К⁺).

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток (РРС), добавить по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови, перемешать пипетированием.

Раствор для разведения сывороток перед использованием встряхнуть!

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех лунок планшета.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре (37±1)°C.

7.10. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.11. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре (37 ± 1)°C.

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.12. По окончании инкубации промыть планшет как описано в п. 7.10.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ.

Планшет инкубировать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C.

Для внесения раствора ТМБ использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.14. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху).

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ.

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{кр. К^-}$).

9.2. На основании полученных данных вычислить критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{кр. К^-} + 0,3$$

где $ОП_{кр. К^-}$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

9.3. Оценка результатов:

– значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 0,7;

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом должно быть не более 0,15 ед. опт. плотн.;

9.4. Только при соблюдении положений п. 9.3 можно учитывать результаты, полученные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

Результат анализа считать **положительным**, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$.

Результат анализа считать **отрицательным**, если $ОП_{обр.} < 0,8 \times ОП_{крит.}$.

Результат анализа считать **неопределенным**, если $0,8 \times ОП_{крит.} \leq ОП_{обр.} < ОП_{крит.}$, где $ОП_{обр.}$ – оптическая плотность исследуемого образца.

В случае неопределенного результата рекомендуется повторно проанализировать эти образцы параллельно с сыворотками данных больных, взятыми через 7–15 дней.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8°C. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- контрольные образцы, конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для предварительного разведения сывороток, раствор для разведения сывороток и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

10.5. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.6. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент, раствор для предварительного разведения сывороток), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

По вопросам, касающимся качества набора «Рубелла-IgM-ИФА-БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу: 630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121, тел. (383) 227-67-64, E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgM к вирусу краснухи в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7 настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;
- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;
- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;
- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);
- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;
- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя опорожнить эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

Ложноположительные результаты могут быть обусловлены:

а) получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50);

б) контаминацией отрицательных сывороток в рабочем и вспомогательных планшетах положительными сыворотками из соседних лунок.

Для получения правильного рабочего разведения исследуемых сывороток необходимо:

а) при отборе 10 мкл сыворотки для предварительного разведения не погружать наконечник глубоко в сыворотку, чтобы исключить налипание сыворотки на внешнюю поверхность наконечника;

б) тщательно перемешивать сыворотку при предварительном разведении 1:10.

4. Оценка анализа по коэффициенту позитивности

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно ОП_{крит.} (п. 9.2).

Для расчета коэффициента позитивности образцов использовать следующую формулу:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{обр.}}{ОП_{крит.}}$$

Результат анализа **положительный**, если $КП_{обр.} \geq 1$, где $КП_{обр.}$ – коэффициент позитивности исследуемого образца.

Результат анализа **отрицательный**, если $КП_{обр.} < 0,8$.

Результат анализа **неопределенный**, если соответствующее ему значение $КП_{обр.}$ попадает в интервал от 0,8 до 1,0.

Расчет КП целесообразно проводить для оценки концентрации специфических антител класса М в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации IgM к вирусу краснухи в динамике в парных образцах сывороток.

5. Диагностическая значимость полученных результатов

Прогноз при заболевании краснухой в основном благоприятный, за исключением врожденной краснухи и осложнений в виде артрита, тромбоцитопенической пурпуры и наиболее тяжелого осложнения – краснушного энцефалита. Особую опасность краснуха представляет для беременных вследствие внутриутробного инфицирования плода. Частота поражений плода зависит от сроков беременности. Заболевание краснухой в первый триместр беременности наиболее опасно и обуславливает врожденные уродства у будущего ребенка в 60% и более случаев. Это – задержка в развитии, поражения зрения и слуха, врожденные пороки сердца, поражения костей конечностей, черепа и др. Поэтому рекомендуется проведение систематического серологического анализа у женщин

репродуктивного возраста для выявления группы риска (с отсутствием антител к вирусу краснухи).

Комплекс методов диагностики краснухи включает количественное определение специфических IgM, специфических IgG к вирусу краснухи, определение индекса avidности специфических IgG, выявление РНК вируса краснухи. Эти методы позволяют быстро, точно и эффективно диагностировать первичную краснуху и реинфекцию, паст-инфекцию, подтверждать инфицирование вирусом плода и/или новорожденного, дифференцировать краснуху от кори, ветряной оспы, иерсиниоза и пр.

Иммуноглобулины класса М к вирусу краснухи обнаруживаются на 3–4 день после появления клинических признаков заболевания, их концентрация достигает максимального значения через 7–10 суток, и, при типичном течении инфекции, они элиминируются через 4–5 недель.

Отрицательный результат, полученный при определении у беременных женщин специфических иммуноглобулинов классов М, не исключает наличия у них инкубационного периода краснухи, а также возможности инфицирования в последующие месяцы беременности. Поэтому при диспансерном наблюдении анализ на наличие серологических маркеров краснухи у таких беременных необходимо проводить через каждые 1–2 месяца (группа риска).

Определение специфических IgM к вирусу краснухи допускает проверку одного образца сыворотки, что является диагностическим признаком в случае положительного результата. Однако число истинных случаев заболевания краснухой снижается, соответственно должна уменьшаться предсказуемая величина заболеваемости, получаемая на основании лабораторных тестов. При этом, при оценке результатов, полученных в тесте, сильно возрастает доля ложноположительных результатов. Это может быть связано с присутствием в испытуемой сыворотке ревматоидного фактора класса М, наличие которого вместе с специфическими IgG может обуславливать в непрямом методе ИФА ложноположительный результат.

Присутствие IgM к вирусу краснухи отражает наличие первичной инфекции. При этом необходимо проведение повторного анализа таких сывороток для исключения ложноположительных результатов, обусловленных случайными, несистемными ошибками при постановке анализа.

Отсутствие IgM к вирусу краснухи не означает, что пациент не инфицирован вирусом краснухи. Если кровь взята у больного в начале острой фазы заболевания, IgM в сыворотке крови могут отсутствовать, поэтому при подозрении на наличие инфекции (клинические проявления) рекомендуется исследовать сыворотку, взятую у пациента через 10–15 дней, на наличие IgM повторно.

Если результат анализа неопределенный, то рекомендуется повторить анализ такой сыворотки. При повторном неопределенном результате необходимо проанализировать сыворотку, полученную через 10–15 дней, параллельно с 1-м образцом сыворотки, на наличие IgM и IgG для выявления сероконверсии и подтверждения факта инфицирования вирусом краснухи.

Для постановки окончательного диагноза рекомендуется исследование сыворотки, взятой на ранних стадиях заболевания, на наличие иммуноглобулинов класса G и определения их avidности. Совокупность результатов ИФА, клиники и эпидемиологии инфекции позволяет ставить окончательный диагноз краснухи.

При анализе парных сывороток для контроля изменения концентрации IgM или наличия сероконверсии оба образца должны быть тестированы одновременно во время одной постановки.

6. Краткая схема проведения ИФА для набора «Рубелла-IgM-ИФА-БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести	по 100 мкл K ⁺ и K ⁻ .
	по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.
Инкубировать	30 мин, 37°C.
Промыть	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
Внести	по 100 мкл конъюгата.
Инкубировать	30 мин, 37°C.
Промыть	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
Внести	по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.
Инкубировать	25 мин, 18–25°C, в темноте.
Внести	по 100 мкл стоп-реагента.
Измерить	ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

7. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-75-43.

11.05.16

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е;
ВИЧ-инфекция; ИППП; TORCH-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

17 листов

Зам.Ген. директора ЗАО "ЭКОлаб"

Гашенко Т.Ю.

06 2021 г.





"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю. Борисов

"16" 04. 2021г.

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

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи» «ИФА-Краснуха-IgM» предназначен для качественного выявления и полуколичественного определения титра иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи в сыворотке (плазме) крови человека методом «capture» иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для серологической диагностики инфекции, вызванной вирусом краснухи.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Краснуха — острое вирусное инфекционное заболевание, проявляющееся умеренно выраженными интоксикационным, катаральным синдромами, лимфаденитом с преимущественным поражением затылочной группы лимфатических узлов и экзантемой. Как правило, краснуха имеет легкое течение, осложнения ее редки. Артрит, как осложнение, чаще наблюдается у взрослых. Отиты, бронхопневмонии, нефриты, в основном, развиваются у детей. К редким осложнениям относится тромбоцитопеническая пурпура, связанная с аутоиммунным механизмом. Наиболее серьезным осложнением краснушной инфекции является энцефалит, так как вирус токсически действует на сосуды головного мозга.

До введения в практику вакцинации против краснухи повышение заболеваемости происходило каждую весну, главным образом болели дети школьного возраста, крупные эпидемии наблюдались каждые 6-9 лет. После того как с 1969 года была начата вакцинация против краснушной инфекции эпидемии прекратились, стали регистрироваться ограниченные вспышки среди восприимчивых лиц, находившихся в тесном контакте с заболевшим.

Краснуха входит в список опасных инфекций во время беременности (TORCH-инфекции). Установлено, что чем меньше срок гестации, тем гораздо чаще и серьезнее тератогенное воздействие вируса на плод.

Для лабораторной диагностики врожденной краснухи в настоящее время используют две основные группы методов, условно обозначаемых как «прямые» (полимеразная цепная

реакция — ПЦР) и «непрямые» (иммуноферментный анализ — ИФА). Наборы реагентов на основе ИФА позволяют выявлять специфические IgM, специфические IgG, а также оценить avidность антител, которая увеличивается в ходе инфекционного процесса. Косвенным лабораторным признаком внутриутробной инфекции является детекция специфических IgM или специфических IgG с низким индексом avidности при отсутствии специфических IgM. Диагностическое значение низкоавидных специфических IgG существенно повышается, если при параллельном серологическом обследовании матери, у неё выявляют высокоавидные специфические IgG.

Наличие IgG-антител при отсутствии в анамнезе указаний на вакцинацию позволяет однозначно установить факт инфицирования, а avidность антител позволяет оценить его давность. Кроме того, нарастание титра низкоавидных IgG-антител при отсутствии выраженной симптоматики процесса может быть единственным доказательством наличия реинфекции или развития активного процесса у вакцинированного человека.

Необходимо отметить, что ИФА важен также при оценке реактогенных свойств и антигенной активности вакцинных препаратов при иммунизации детей и женщин детородного возраста, определения защитного уровня антител после вакцинации.

СОСТАВ И БАЗОВАЯ КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	очищенные моноклональные антитела к IgM человека, сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном (используются "ломающиеся" стрипы)	Комплект №1	Комплект №2
		1 планшет	1 планшет
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)		
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный, содержит антитела класса М к вирусу краснухи в титре 1:800; прозрачная жидкость красного цвета.	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный образец уровня среза (K ⁺ _{срез})	инактивированный; содержит антитела класса М к вирусу краснухи в "пороговом" титре (1:100); прозрачная жидкость желтого цвета.	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный; не содержит антитела класса М к вирусу краснухи; прозрачная жидкость зеленого цвета	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (1,5 мл)
Конъюгат	нативный очищенный инактивированный антиген вируса краснухи, меченный пероксидазой, прозрачная жидкость желтого цвета	1 фл. (13 мл) (титр 1:1000)	1 фл. (13 мл) (титр 1:2000)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная жидкость зеленого цвета	2 фл. (по 50 мл)	2 фл. (по 50 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)]	слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	2 фл. (по 40 мл)	2 фл. (по 40 мл)

Раствор индикаторный (РИ)	прозрачная бесцветная или светло-розового цвета жидкость	1 фл. (13 мл)	1 фл. (13 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12,5 мл)	1 фл. (12,5 мл)
Вспомогательный планшет для предварительного разведения исследуемых образцов		1 шт.	1 шт.
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.	16 шт.

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

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

3. Допускается использование неспецифических реагентов из разных серий набора реагентов.

4. K^+ , K^+ пор и K^- не содержат HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2.

5. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор укомплектован принадлежностями:

Вспомогательными пластиковыми (ПВХ) емкостями

– 4 шт.

Клейкой пленкой для планшета

– 4 шт.

Карточка маркировки стрипов по инфекциям – 1 шт.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению, бланк калибровочного графика.

По желанию потребителя базовые комплектации набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовые варианты комплектации набора позволяет одномоментное исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используются 6 лунок, 1 лунка – для выведения уровня "бланк"). Допускается использование 3 лунок на контроль (по одной лунке на контрольный образец: K^+ , K^- , K^+ пор.). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

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

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце антител класса М к вирусу краснухи антитела, сорбированные на поверхности лунок полистиролового планшета, связываются с IgM антителами сыворотки крови. Конъюгат – антиген вируса краснухи, меченный пероксидазой хрена, связывается с IgM-антителами, специфическими к вирусу краснухи. Присутствие в

сыворотке специфических IgG-антител, ревматоидного фактора и антинуклеарных антител потенциально не оказывает влияния на результаты реакции. Образовавшийся комплекс "антитело-антитело-конъюгат" выявляется по реакции с индикаторным раствором, содержащим хромоген тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется с помощью спектрофотометра.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимальный титр IgM-антител к вирусу краснухи, выявляемый набором) – 1:100.

Чувствительность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих иммуноглобулины класса М к вирусу краснухи (СОП⁺-048) как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащих иммуноглобулины класса М к вирусу краснухи (СОП-048) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Коэффициент вариации K^+ и $K^+_{\text{пор}}$ – не более 10 %.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,06% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,66% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Воспроизводимость – 100%.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 10 мкл.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать на лабораторном встряхивателе типа «Вортекс».

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.

Перекрестных иммунологических реакций, обусловленных наличием общих антигенных детерминант с возбудителями цитомегаловирусной инфекции, кори и эпидемического паротита не выявлено.

При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, 120 мкмоль/л билирубина и 11 ммоль/л триглицеридов интерференция не наблюдалась.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.), ГОСТ 31508.

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).

РРО содержит натрия азид, конъюгат - тимеросал в безопасной концентрации. Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" 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 (вошеры), 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.
- Анализатор иммуноферментный.
- Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин.
- Термостат на 37 °C ± 1 °C, термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и температуре (37 °C ± 1 °C).
- Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.
- Вортекс лабораторный, диапазон скоростей 250-3000 об/мин.
- Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).
- 70 %-ный раствор спирта этилового и 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 °C.

Приготовление рабочих разведений исследуемых образцов

По 10 мкл каждого образца смешайте с 1 мл РРО (разведение 1:100), тщательно перемешайте пипетированием.

Для предварительного разведения образцов можно использовать вспомогательный планшет; для этого внести в необходимое число его лунок по 90 мкл РРО, затем внести в них по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешать пипетированием (разведение 1:10). Рабочее разведение (1:100) будет получено непосредственно в лунках иммуносорбента.

Рабочие разведения образцов хранить не более 3 ч при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка и перед разведением охладить до температуры 25 °С.

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

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

Таблица 1

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(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 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, К⁺, К⁻, К⁺_{пор}, РРО, конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

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 пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8 °С до истечения срока годности набора.

2. Одну лунку (напр., А1) оставить незаполненной.

Внести (соблюдая указанную последовательность):

в две лунки (напр., В1, С1) – по 100 мкл К⁺,

в две лунки (напр., D1, E1) – по 100 мкл К⁺_{пор},

в две лунки (напр., F1, G1) – по 100 мкл К⁻,

в следующие лунки - по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов (по 1 лунке на образец). При использовании вспомогательного планшета для разведения образцов в соответствующие лунки иммуносорбента внести по 90 мкл РРО, а затем – по 10 мкл образцов, разведенных 1:10 в лунках вспомогательного планшета, тщательно перемешать пипетированием.

Накрыть планшет липкой пленкой.

3. Инкубировать:

Комплект №1 - 60 мин при температуре 37 °С в термостате;

Комплект №2 - 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин)

4. С помощью промывателя удалить образцы из 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 удалить остатки влаги из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге, положенной на полиэтиленовую пленку.

При ручной промывке промыть планшет 4 раза. Заполненные ФСБ-Т лунки выдерживать не менее 1 минуты.

5. Во все лунки (кроме лунки А1) внести по 100 мкл конъюгата.

6. Планшет закрыть клейкой пленкой. Инкубировать:

Комплект №1 - 30 мин при температуре 37 °С в термостате;

Комплект №2 - 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).

7. С помощью промывателя удалить жидкость из 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 выдержать 25 мин при температуре от 21 до 25 °С.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более, чем через 10-15 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм (допустимо использование фильтра сравнения с длиной волны 620 или 630 нм). Оптический нуль фотометра ("бланк") устанавливается против воздуха.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

среднее значение $ОП_{K+}$ – не менее 0,50;

среднее значение $ОП_{K+пор}$ (комплект №1) – не менее 0,20;

среднее значение $ОП_{K+пор}$ (комплект №2) – не менее 0,26;

отношение среднего значения $ОП_{K+}$ к среднему значению $ОП_{K+пор}$ – не менее 1,5;

среднее значение $ОП_{K-}$ – не более 0,15

значение $ОП_{бланк}$ менее 0,15.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Качественный учет результатов

Исследуемые образцы учитываются:

как положительные при $ОП > 1,1 \times ОП(K^+_{пор})$,

как отрицательные при $ОП < 0,9 \times ОП(K^+_{пор})$.

Образцы с ОП в пределах от $0,9 \times ОП(K^+_{пор})$ до $1,1 \times ОП(K^+_{пор})$, т.е. в так называемой "серой" зоне, рекомендуется исследовать повторно, поскольку результаты, полученные в ней, не могут быть однозначно интерпретированы.

При повторном получении указанного результата, рекомендуется мониторинг наличия антител у пациента для исключения неспецифических реакций, которые также могут давать сомнительные результаты.

Полуколичественный учет результатов

В образцах, оцененных как положительные, может быть определен титр IgM-антител к вирусу краснухи, для чего на бланке калибровочного графика по точкам, ординатами которых (пропорциональная шкала) служат полученные значения $ОП(K^+)$ и $ОП(K^+_{пор})$, а абсциссами (логарифмическая шкала) - значения титров IgM-антител в K^+ и $K^+_{пор}$ (1:800 и 1:100), следует провести прямую линию и найти на ней точку, ординатой которой является полученное значение ОП исследуемого образца; абсцисса указанной точки будет соответствовать искомому значению титра IgM-антител.

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 – 18 месяцев. 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 регламентируемый 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 регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается.

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

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи» «ИФА-Краснуха-IgM» соответствует ТУ 9398-048-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности. По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1А. ЗАО "ЭКОлаб"; ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, 3-30-85, 8-800-333-33-47.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным, для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия, потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб"

по научной работе

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

«16» 04 2021 г.



КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА (ИФА-Краснуха-IgM)

Комплект №1

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	лунку A1 оставить незаполненной; в лунки B1, C1 – по 100 мкл K ⁺ , в лунки D1, E1 – по 100 мкл K ⁺ _{пор.} , в лунки F1, G1 – по 100 мкл K, в следующие лунки - по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов (по 1 лунке на образец)
Инкубация	60 мин, 37 °C
Промыть	4 раза ФСБ-Т
Внести	по 100 мкл конъюгата в каждую лунку (кроме A1)
Инкубация	30 мин, 37 °C
Промыть	4 раза ФСБ
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	25 мин, 21-25 °C
Внести	по 100 мкл стоп-реактанта в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

Комплект №2

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	лунку A1 оставить незаполненной; в лунки B1, C1 – по 100 мкл K ⁺ , в лунки D1, E1 – по 100 мкл K ⁺ _{пор.} , в лунки F1, G1 – по 100 мкл K, в следующие лунки - по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов (по 1 лунке на образец)
Инкубация	30 мин, 37 °C в термошейкере (700 об/мин).
Промыть	4 раза ФСБ-Т
Внести	по 100 мкл конъюгата в каждую лунку (кроме A1)
Инкубация	30 мин, 37 °C в термошейкере (700 об/мин).
Промыть	4 раза ФСБ-Т
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	25 мин, 21-25 °C
Внести	по 100 мкл стоп-реактанта в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

16 04 2021 год
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
лист 06
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
16 04 2021 г.



В.Ю. Борисов
2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

**«Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов
класса М к вирусу краснухи»
«ИФА-Краснуха-IgM»**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи» «ИФА-Краснуха-IgM» предназначен для качественного выявления и полуколичественного определения титра иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи в сыворотке (плазме) крови человека методом «capture» иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для серологической диагностики инфекции, вызванной вирусом краснухи.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Квалифицированный персонал работающий с изделием должен придерживаться надлежащих правил лабораторной практики, исключая контакт с организмом пациента и персонала.

Описание целевого аналита, сведения о его научной обоснованности

Краснуха — острое вирусное инфекционное заболевание, проявляющееся умеренно выраженными интоксикационным, катаральным синдромами, лимфаденитом с преимущественным поражением затылочной группы лимфатических узлов и экзантемой. Как правило, краснуха имеет легкое течение, осложнения ее редки. Артрит, как осложнение, чаще наблюдается у взрослых. Отиты, бронхопневмонии, нефриты, в основном, развиваются у детей. К редким осложнениям относится тромбоцитопеническая пурпура, связанная с аутоиммунным механизмом. Наиболее серьезным осложнением краснушной инфекции является энцефалит, так как вирус токсически действует на сосуды головного мозга.

До введения в практику вакцинации против краснухи повышение заболеваемости происходило каждую весну, главным образом болели дети школьного возраста, крупные эпидемии наблюдались каждые 6-9 лет. После того как с 1969 года была начата вакцинация против краснушной инфекции эпидемии прекратились, стали регистрироваться ограниченные вспышки среди восприимчивых лиц, находившихся в тесном контакте с заболевшим.

Краснуха входит в список опасных инфекций во время беременности (TORCH-инфекции). Установлено, что чем меньше срок гестации, тем гораздо чаще и серьезнее тератогенное воздействие вируса на плод.

Для лабораторной диагностики врожденной краснухи в настоящее время используют две основные группы методов, условно обозначаемых как «прямые» (полимеразная цепная реакция — ПЦР) и «непрямые» (иммуноферментный анализ — ИФА). Наборы реагентов на основе ИФА позволяют выявлять специфические IgM, специфические IgG, а также оценить avidность антител, которая увеличивается в ходе инфекционного процесса. Косвенным лабораторным признаком внутриутробной инфекции является детекция специфических IgM или специфических IgG с низким индексом avidности при отсутствии специфических IgM. Диагностическое значение низкоавидных специфических IgG существенно повышается, если при параллельном серологическом обследовании матери, у неё выявляют высокоавидные специфические IgG.

Наличие IgG-антител при отсутствии в анамнезе указаний на вакцинацию позволяет однозначно установить факт инфицирования, а avidность антител позволяет оценить его давность. Кроме того, нарастание титра низкоавидных IgG-антител при отсутствии выраженной симптоматики процесса может быть единственным доказательством наличия реинфекции или развития активного процесса у вакцинированного человека.

Необходимо отметить, что ИФА важен также при оценке реактогенных свойств и антигенной активности вакцинных препаратов при иммунизации детей и женщин детородного возраста, определения защитного уровня антител после вакцинации.

СОСТАВ И БАЗОВАЯ КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	очищенные моноклональные антитела к IgM человека, сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном (используются "ломающиеся" стрипы)	Комплект №1	Комплект №2
		1 планшет	1 планшет
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)		
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный, содержит антитела класса М к вирусу краснухи в титре 1:800; прозрачная жидкость красного цвета.	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный образец уровня среза (K ⁺ _{пор})	инактивированный; содержит антитела класса М к вирусу краснухи в "пороговом" титре (1:100); прозрачная жидкость желтого цвета.	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный; не содержит антитела класса М к вирусу краснухи; прозрачная жидкость зеленого цвета	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (1,5 мл)
Конъюгат	нативный очищенный инактивированный антиген вируса краснухи, меченный пероксидазой, прозрачная жидкость желтого цвета	1 фл. (13 мл) (титр 1:1000)	1 фл. (13 мл) (титр 1:2000)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная жидкость зеленого цвета	2 фл. (по 50 мл)	2 фл. (по 50 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого	слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета,	2 фл. (по 40 мл)	2 фл. (по 40 мл)

буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)]	растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин		
Раствор индикаторный (РИ)	прозрачная бесцветная или светло-розового цвета жидкость	1 фл. (13 мл)	1 фл. (13 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12,5 мл)	1 фл. (12,5 мл)
Вспомогательный планшет для предварительного разведения исследуемых образцов		1 шт.	1 шт.
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.	16 шт.
Инструкция по применению набора реагентов		1 шт.	1 шт.
Бланк калибровочного графика		1 шт.	1 шт.

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

2. ФСБ-Т(x25), РИ, РРО, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

3. Допускается использование неспецифических реагентов из разных серий набора реагентов.

4. K^+ , K^+ пор и K^- не содержат HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2.

5. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор укомплектован принадлежностями:

Вспомогательными пластиковыми (ПВХ) емкостями

– 4 шт.

Клейкой пленкой для планшета

– 4 шт.

Карточка маркировки стрипов по инфекциям – 1 шт.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению, бланк калибровочного графика.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовые варианты комплектации набора позволяет одномоментное исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используются 6 лунок, 1 лунка – для выведения уровня "бланк"). Допускается использование 3 лунок на контроль (по одной лунке на контрольный образец: K^+ , K^- , K^+ пор.). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

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

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце антител класса М к вирусу краснухи антитела, сорбированные на поверхности лунок полистиролового планшета, связываются с IgM антителами сыворотки крови. Конъюгат – антиген вируса краснухи, меченный пероксидазой хрена, связывается с IgM-антителами, специфическими к вирусу краснухи. Присутствие в сыворотке специфических IgG-антител, ревматоидного фактора и антинуклеарных антител потенциально не оказывает влияния на результаты реакции. Образовавшийся комплекс "антитело-антитело-конъюгат" выявляется по реакции с индикаторным раствором, содержащим хромоген тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется с помощью спектрофотометра.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимальный титр IgM-антител к вирусу краснухи, выявляемый набором) – 1:100.

Чувствительность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих иммуноглобулины класса М к вирусу краснухи (СОП⁺-048) как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащих иммуноглобулины класса М к вирусу краснухи (СОП⁻-048) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Коэффициент вариации K^+ и $K^+_{\text{пор}}$ – не более 10 %.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,06% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,66% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Воспроизводимость – 100%.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 10 мкл.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать на лабораторном встряхивателе типа «Вортекс».

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

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

Перекрестных иммунологических реакций, обусловленных наличием общих антигенных детерминант с возбудителями цитомегаловирусной инфекции, кори и эпидемического паротита не выявлено.

При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, 120 мкмоль/л билирубина и 11 ммоль/л триглицеридов интерференция не наблюдалась.

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.), ГОСТ 31508.

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

РРО содержит натрия азид, конъюгат - тимеросал в безопасной концентрации. Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" 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 (вошеры), 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.

- Анализатор иммуноферментный.

- Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин.

- Термостат на 37 °С ± 1 °С, термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и температуре (37 °С ± 1 °С).

- Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

- Вортекс лабораторный, диапазон скоростей 250-3000 об/мин.

- Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).
- 70 %-ный раствор спирта этилового и 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.

Приготовление рабочих разведений исследуемых образцов

По 10 мкл каждого образца смешайте с 1 мл РРО (разведение 1:100), тщательно перемешайте пипетированием.

Для предварительного разведения образцов можно использовать вспомогательный планшет; для этого внести в необходимое число его лунок по 90 мкл РРО, затем внести в них по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешать пипетированием (разведение 1:10). Рабочее разведение (1:100) будет получено непосредственно в лунках иммуносorbента.

Рабочие разведения образцов хранить не более 3 ч при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка и перед разведением охладить до температуры 25 °С.

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

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

Таблица 1

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(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 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносorbент, К⁺, К⁻, К⁺_{пор}, РРО, конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

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 пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносorbента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

2. Одну лунку (напр., А1) оставить незаполненной.

Внести (соблюдая указанную последовательность):

в две лунки (напр., В1, С1) – по 100 мкл К⁺,

в две лунки (напр., D1, E1) – по 100 мкл К⁺_{пор},

в две лунки (напр., F1, G1) – по 100 мкл К⁻,

в следующие лунки - по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов (по 1 лунке на образец). При использовании вспомогательного планшета для разведения образцов в соответствующие лунки иммуносорбента внести по 90 мкл РРО, а затем – по 10 мкл образцов, разведенных 1:10 в лунках вспомогательного планшета, тщательно перемешать пипетированием.

Накрыть планшет липкой пленкой.

3. Инкубировать:

Комплект №1 - 60 мин при температуре 37 °С в термостате;

Комплект №2 – 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин)*

4. С помощью промывателя удалить образцы из 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 удалить остатки влаги из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге, положенной на полиэтиленовую пленку.

При ручной промывке промыть планшет 4 раза. Заполненные ФСБ-Т лунки выдерживать не менее 1 минуты.

5. Во все лунки (кроме лунки А1) внести по 100 мкл конъюгата.

6. Планшет закрыть клейкой пленкой. Инкубировать:

Комплект №1 - 30 мин при температуре 37 °С в термостате;

Комплект №2 – 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).*

7. С помощью промывателя удалить жидкость из 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 выдержать 25 мин при температуре от 21 до 25 °С.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более, чем через 10-15 мин приступить к учету результатов.

***Примечание:**

Инкубация с встряхиванием при 700 об/мин приводит к изменению кинетических и равновесных параметров реакции антитела и антигена, что позволяет сократить время инкубации на 30 минут. Показатели чувствительности и специфичности при этом не меняются.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм (допустимо использование фильтра сравнения с длиной волны 620 или 630 нм). Оптический нуль фотометра ("бланк") устанавливается против воздуха.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

среднее значение $ОП_{K+}$ – не менее 0,50;

среднее значение $ОП_{K+пор}$ (комплект №1) – не менее 0,20;

среднее значение $ОП_{K+пор}$ (комплект №2) – не менее 0,26;

отношение среднего значения $ОП_{K+}$ к среднему значению $ОП_{K+пор}$ – не менее 1,5;

среднее значение $ОП_{K-}$ – не более 0,15

значение $ОП_{бланк}$ менее 0,15.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Качественный учет результатов

Исследуемые образцы учитываются:

как положительные при $ОП > 1,1 \times ОП(K_{пор}^+)$,

как отрицательные при $ОП < 0,9 \times ОП(K_{пор}^+)$.

Образцы с ОП в пределах от $0,9 \times \text{ОП}(\text{K}^+_{\text{пор}})$ до $1,1 \times \text{ОП}(\text{K}^+_{\text{пор}})$, т.е. в так называемой "серой" зоне, рекомендуется исследовать повторно, поскольку результаты, полученные в ней, не могут быть однозначно интерпретированы.

При повторном получении указанного результата, рекомендуется мониторинг наличия антител у пациента для исключения неспецифических реакций, которые также могут давать сомнительные результаты.

Полуколичественный учет результатов

В образцах, оцененных как положительные, может быть определен титр IgM-антител к вирусу краснухи, для чего на бланке калибровочного графика по точкам, ординатами которых (пропорциональная шкала) служат полученные значения ОП(K^+) и ОП($\text{K}^+_{\text{пор}}$), а абсциссами (логарифмическая шкала) - значения титров IgM-антител в K^+ и $\text{K}^+_{\text{пор}}$ (1:800 и 1:100), следует провести прямую линию и найти на ней точку, ординатой которой является полученное значение ОП исследуемого образца; абсцисса указанной точки будет соответствовать искомому значению титра IgM-антител.

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 – 18 месяцев. 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 регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °C в течение всего срока годности.

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

Транспортирование

Замораживание не допускается.

При температуре от 2 до 8 °C 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 °C в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи» «ИФА-Краснуха-IgM» соответствует ТУ 9398-048-70423725-2020, с изм. №1, №2 Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности. По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1А. ЗАО "ЭКОлаб"; ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, 3-30-85, 8-800-333-33-47.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным, для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия, потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

"21" 10 2021 г.



С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

"21" 10 2021 г.



П.К.Варнавичус

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА (ИФА-Краснуха-IgM)

Комплект №1

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	лунку A1 оставить незаполненной; в лунки B1, C1 – по 100 мкл K ⁺ , в лунки D1, E1 – по 100 мкл K ⁺ _{пор} , в лунки F1, G1 – по 100 мкл K ⁻ , в следующие лунки - по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов (по 1 лунке на образец)
Инкубация	60 мин, 37 °С
Промыть	4 раза ФСБ-Т
Внести	по 100 мкл конъюгата в каждую лунку (кроме A1)
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	4 раза ФСБ
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	25 мин, 21-25 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

Комплект №2

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	лунку A1 оставить незаполненной; в лунки B1, C1 – по 100 мкл K ⁺ , в лунки D1, E1 – по 100 мкл K ⁺ _{пор} , в лунки F1, G1 – по 100 мкл K ⁻ , в следующие лунки - по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов (по 1 лунке на образец)
Инкубация	30 мин, 37 °С в термошейкере (700 об/мин).
Промыть	4 раза ФСБ-Т
Внести	по 100 мкл конъюгата в каждую лунку (кроме A1)
Инкубация	30 мин, 37 °С в термошейкере (700 об/мин).
Промыть	4 раза ФСБ-Т
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	25 мин, 21-25 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

«24» 10 2021 год

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

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью



10 лист 06
Ген. Директор ЗАО "ЭКОЛЭБ"
Борисов В.Ю.
" 24 " 10 2021 г.