«СОГЛАСОВАНО»

Директор
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова
_____ О.А.Свитич
«__32__» ____10____ 2019 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Начальник Управления
регистрации
и медицинских исследований
АО «НПО «Микроген»
_____ А.Е. Ершов
«__30__» ____10____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
Моно-РИД-G,A,M
Сыворотки диагностические моноспецифические против IgG(H), IgA(H), IgM(H) человека сухие по ТУ 21.20.21-145-20401675-2019

Регистрационное удостоверение № ФСР2010/07985

НАЗНАЧЕНИЕ

Изделие для диагностики in vitro предназначено для качественного и количественного определения иммуноглобулинов G, A, M (IgG, IgA, IgM) в сыворотке крови и других биологических жидкостях человека методами иммуноэлектрофореза (ИЭФ), радиальной иммунодиффузии (РИД), преципитации в геле.

Функциональное назначение – вспомогательное средство в диагностике.

Функциональное назначение – вспомогательное средство в диагностике.

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

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

СОСТАВ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ЕГО КОМПОНЕНТОВ

Состав изделия:

1. Сыворотка против IgG(H) – 3 ампулы, лиофилизат из 1,0 мл;
2. Сыворотка против IgA(H) – 3 ампулы, лиофилизат из 1,0 мл;
3. Сыворотка против IgM(H) – 3 ампулы, лиофилизат из 1,0 мл;
4. Контрольная сыворотка крови человека – 1 ампула, лиофилизат из 1,0 мл

Комплектация. В комплект входят: компоненты изделия, инструкция по применению, паспорт (в комплекте поставки).

Характеристика компонентов изделия.

1. Сыворотка против IgG(H) – иммунная сыворотка крови овец, содержащая антитела против тяжелых цепей IgG человека в титре не менее чем 1 : 20 в РИД (титр сыворотки указан на ампуле), сухая. Пористая масса от беловато-серого до розовато-желтого цвета.

2. Сыворотка против IgA(H) – иммунная сыворотка крови овец, содержащая антитела против тяжелых цепей IgA человека в титре не менее чем 1 : 20 в РИД (титр сыворотки указан на

ампуле), сухая. Пористая масса от беловато-серого до розовато-желтого цвета.

3. Сыворотка против IgM(H) – иммунная сыворотка крови овец, содержащая антитела против тяжелых цепей IgM человека в титре не менее чем 1 : 20 в РИД (титр сыворотки указан на ампуле), сухая. Пористая масса от беловато-серого до розовато-желтого цвета.

4. Контрольная сыворотка крови человека – смесь сывороток крови человека не менее чем от 500 доноров, с аттестованным значением концентраций IgG, IgA, IgM в международных (МЕ/мл) и весовых (мг/мл) единицах (концентрации IgG, IgA, IgM указаны на внешней упаковке изделия), сухая. Пористая масса от беловато-серого до розовато-желтого цвета.

Моноспецифические сыворотки против иммуноглобулинов человека и контрольная сыворотка крови человека должны полностью растворяться в течение 5 мин после добавления в ампулу 1,0 мл воды очищенной. Моноспецифические сыворотки против иммуноглобулинов человека и контрольная сыворотка крови человека после растворения должны образовывать прозрачный раствор, без осадка и посторонних включений, розовато-желтого цвета. Допустима небольшая опалесценция в проходящем свете.

ПРИНЦИП МЕТОДА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Принцип действия основан на взаимодействии антигенов (IgG, IgA, IgM) в исследуемом образце со специфическими по отношению к ним преципитирующими антителами моноспецифических сывороток с образованием определяемых визуально иммунных комплексов.

Метод ИЭФ основан на способности иммуноглобулинов перемещаться в агаровом геле под действием электрического поля и последующего их выявления путем специфического взаимодействия с антителами моноспецифических сывороток, с образованием иммунных комплексов в виде видимых линий преципитаций.

Реакция преципитации в агаровом геле основана на способности к диффундированию в агаровом геле антигенов (IgG, IgA, IgM) и антител и образовании в результате их взаимодействия иммунных комплексов в виде видимых линий преципитаций.

Метод РИД предназначен для количественной оценки иммуноглобулинов в исследуемом образце. Принцип метода заключается в том, что антиген (IgG, IgA, IgM), внесенный в лунки агарового геля, содержащего моноспецифическую сыворотку к этому антигену, диффундирует в гель и, взаимодействуя с антителами, образует кольцо преципитации. После учета результатов реакции устанавливается линейная зависимость между логарифмом концентрации антигена и диаметром (площадью) кольца преципитации в определенном диапазоне концентраций. Содержание иммуноглобулинов определяют по калибровочной кривой относительно контрольной сыворотки крови человека с известными концентрациями иммуноглобулинов.

Контрольная сыворотка крови человека (СОПр) аттестована по международному стандартному образцу (референс-препарату № 67/86 «Human serum immunoglobulins G, A and M (IgG, IgA and IgM). 1 st I.R.P., established 1970»).

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Изделие предназначено для клинической лабораторной диагностики для однократного применения по назначению. Изделие имеет один вариант исполнения. Модельный и типоразмерный ряд отсутствует. Изделие является нестерильным.

Изделие рассчитано для проведения не менее 50 определений в ИЭФ или не менее 120 определений в РИД каждого иммуноглобулина (IgG, IgA, IgM). Вид аналита – качественный (ИЭФ, преципитация в геле), количественный, полуколичественный (РИД).

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

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

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Специфичность: моноспецифические сыворотки против иммуноглобулинов человека должны выявлять в ИЭФ с нормальной сывороткой крови человека только одну линию преципитации в зоне соответствующего иммуноглобулина (G, A или M).

Титр сывороток (сыворотка против IgG(H), сыворотка против IgA(H), сыворотка против IgM(H) - не менее 1:20.

Чувствительность: IgG не более 10 МЕ/мл, IgA не более 10 МЕ/мл, IgM не более 20 МЕ/мл.

Линейность в пределах от 90 до 110 % в диапазоне концентраций от 25 до 200 МЕ/л.

Тест на «открытие» в пределах от 90 до 110 %.

Коэффициент вариации не более 10 %.

Содержание иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) в контрольной сыворотке крови человека от 100 до 200 МЕ/мл (каждого иммуноглобулина).

Средний уровень иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) в сыворотке человека в норме у взрослого составляет, г/л: IgG – 12,5±3, IgA – 2,1±0,5, IgM – 1,25±0,5 («Клиническая иммунология: руководство для врачей» СПб: Питер, 2001).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Изделие Набор реагентов Моно-РИД-G,A,M Сыворотки диагностические моноспецифические против IgG(H), IgA(H), IgM(H) человека сухие является безопасным. Изделие не приносит вреда окружающей природной среде и здоровью человека при транспортировании, хранении, применении, при условии соблюдения настоящей инструкции. Компоненты изделия являются негорючими, невзрывоопасными, не способными самовозгораться, не радиоактивными, нетоксичными, не обладают канцерогенным, мутагенным действием или отрицательно влияющим

на репродуктивную функцию человека, в том числе не образуют токсичных соединений с другими веществами, не обладают кумулятивными свойствами.

Контрольная сыворотка крови человека не содержит поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С, вирусам иммунодефицита человека ВИЧ-1 и ВИЧ-2, к возбудителю сифилиса и нуклеиновых кислот ВИЧ, вируса гепатита С, вируса гепатита В.

Иммунные сыворотки крови овец, используемые для получения моноспецифических сывороток, получены от здоровых животных, прошедших ветеринарный контроль и находящихся под наблюдением специалиста.

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

– ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;

– СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (для бактериологических лабораторий учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор и лечебно-профилактических учреждений);

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

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

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

– работать в боксированных помещениях для проведения микробиологических исследований с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды, одноразовых резиновых перчаток, защитного экрана или очков);

– не пипетировать ртом;

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

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

– избегать образования аэрозолей, попадания исследуемых образцов и их растворов, реагентов из набора в рот, их проглатывания, контакта с кожей и слизистыми оболочками;

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

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

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

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

МЕРЫ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИЗДЕЛИЯ.

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

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

– не использовать изделие при отсутствии на его упаковке соответствующей маркировки, нарушении целостности упаковки компонентов и компоненты от разных серий изделия;

– не использовать изделие с истёкшим сроком годности;

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

– отбор реагентов следует производить чистыми наконечниками для автоматических пипеток.

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Оборудование:

– прибор для иммуноэлектрофореза с выпрямителем электрического тока;

– весы лабораторные;

– плитка электрическая;

– pH-метр;

– термобаня, поддерживающая температуру (53±3) °С;

– пластины стеклянные размером (90×120) мм;

– П-образная рамка толщиной 1 мм;

– зажимы;

– предметный столик с регулируемым уровнем;

– микрошприц 0 – 10 мкл;

– дозаторы (пипетки) для внесения жидкостей переменного объема от 10 мкл до 1000 мкл;

– наконечники полипропиленовые объемом 5 – 200 мкл, 200 – 1000 мкл;

– влажная камера;

– холодильник, обеспечивающий температуру (5±3) °С;

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

– пробирки (флаконы) для приготовления разведений сывороток, анализируемых образцов;

– линейка, для измерения диаметров колец преципитации;

– карандаш по стеклу;

– емкость для обеззараживания;

Материалы и реагенты:

– вода очищенная;

– натрия хлорид;

– кислота борная х.ч.;

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

– агар;

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

– пиронин Б;

– амидо черный 10Б;

– кислота уксусная х.ч. ледяная;

– глицерин ч.д.а.;

– жидкость полиметилсилоксановая ПМС-20 (гидрофобная жидкость);

– бумага фильтровальная лабораторная;

– бумага полулогарифмическая (марка ПЛН);

– перчатки одноразовые;

– дезинфицирующие растворы.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

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

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

Все исследуемые образцы должны иметь четкую маркировку (идентификацию).

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ И РАСТВОРОВ

Подготовка компонентов изделия

Содержимое ампул растворяют в 1,0 мл воды очищенной.

Приготовленные растворы допускается хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 30 суток или при температуре не выше минус 18 °С не более 1 года в герметично закрытых флаконах (микропробирках). Замороженные растворы перед использованием следует разморозить и тщательно перемешать встряхиванием. Допускается до 3-х замораживаний.

Разведения сывороток готовить непосредственно перед использованием. Приготовленные разведения хранению не подлежат.

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

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

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

Приготовление натрия хлорида раствора 0,9 %.

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

Приготовление агарового геля 1 %.

Количество агарового геля рассчитывают исходя из количества пластин. 1 г агара перенести в стакан, 2-3 раза промыть водой очищенной, затем варить на кипящей водяной бане в 50 мл воды очищенной до полного растворения. Сваренный агар перелить в цилиндр мерный, довести объем раствора до метки 100 мл подогретым боратным буферным раствором 0,05 М pH (8,6±0,1), внести 0,1 г мертиолята, перемещать. Агаровый гель должен быть однороден, прозрачен и не должен содержать механических примесей. Готовый агаровый гель перелить во флакон, после застывания хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 3 месяцев.

Приготовление агарового геля 2 %.

Количество агарового геля рассчитывают исходя из количества пластин. 2 г агара перенести в стакан, 2-3 раза промыть водой очищенной, затем варить на кипящей водяной бане в 100 мл воды очищенной до полного растворения агара. В сваренный агар внести 0,9 г натрия хлорида и 0,1 г мертиолята, перемешать. Агаровый гель должен быть однороден, прозрачен и не должен содержать механических примесей. Агаровый гель разлить по пробиркам по 6-8 мл, три из которых поставить в термобаню с температурой (53±3) °С. Остальные пробирки после застывания агара хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 3 месяцев.

Приготовление раствора пиронина Б 0,1 %.

0,1 г пиронина Б перенести в колбу мерную, довести объем раствора до метки 100 мл водой

очищенной, перемешать до полного растворения. Приготовленный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 6 месяцев.

Приготовление красящего раствора.

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

Приготовление раствора для отмывки агарового геля.

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

Заливка стеклянных пластин агаровым гелем для ИЭФ.

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

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ (АНАЛИЗА)

Иммуноэлектрофорез (ИЭФ).

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

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

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

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

Прибор для ИЭФ накрыть крышкой с платиновыми электродами и подсоединить к выпрямителю электрического тока. Электрофорез проводить при напряжении 70-150 В и силе тока 10-50 мА в течение 2-3 ч. Электрофорез остановить, когда пятно пиронина, соответствующее миграции альбумина, будет находиться на расстоянии 20-25 мм от лунки.

После проведения электрофореза извлечь пластины из прибора. В канавки с помощью пипеточного дозатора внести растворенные сыворотки против IgG(H), IgA(H), IgM(H). Затем пластины поместить во влажную камеру и инкубировать в холодильнике при температуре (5±3) °С в течение 24-48 ч.

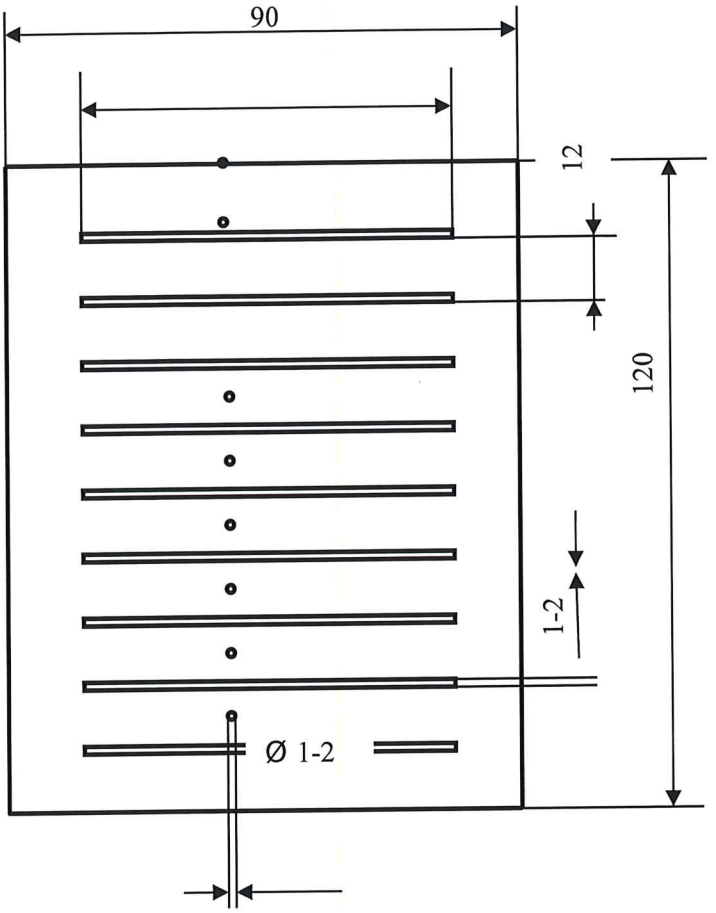


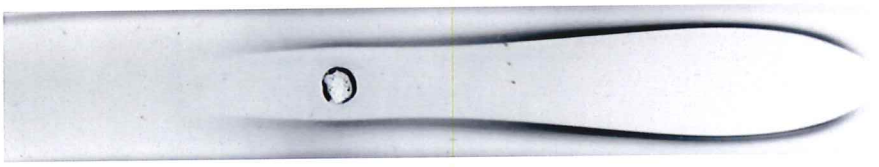
Рис. 1. Схема расположения лунок и канавок при постановке ИЭФ.

Учет результатов ИЭФ.

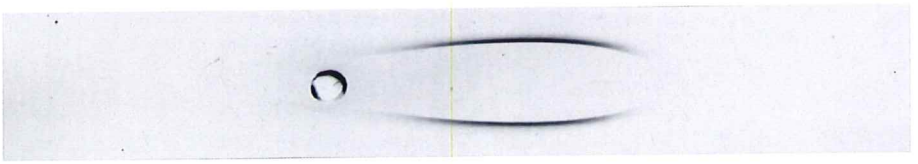
Проводят визуально. После инкубации в агаровом геле образуются линии преципитации, характерные для каждого иммуноглобулина (G, A и M) (рис. 2).

Пластины с агаром можно фотографировать контактным методом или в проходящем свете или высушивать и окрашивать раствором амидо черного 10Б.

а.



б.



в.

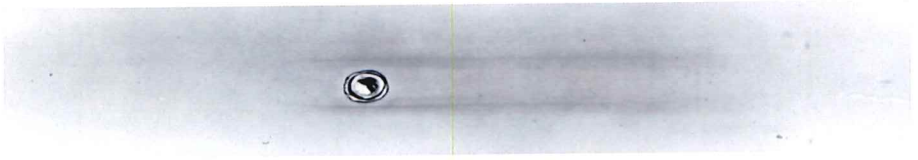


Рис. 2. Иммуноэлектрофореграммы: а – IgG, б – IgA, в – IgM.

В лунках – контрольная сыворотка крови человека, в канавках – соответствующая моноспецифическая сыворотка.

Реакция преципитации в геле (по Оухтерлони).

На пластинах с залитым агаровым гелем 1 % в слое агара пробить лунки, используя для этого специальный штамп (рис.3) и удалить из них агар.

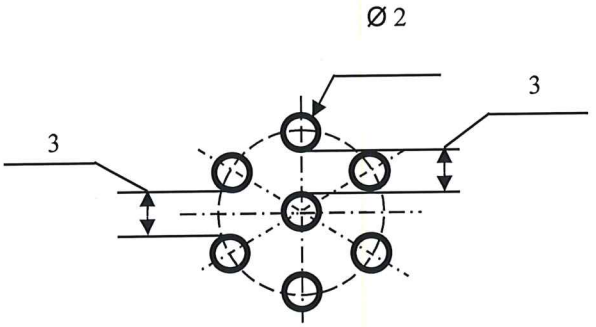


Рис. 3. Схема штампа для реакции преципитации в геле по Оухтерлони.

В центральную лунку внести растворенную моноспецифическую сыворотку (сыворотку против IgG(H), IgA(H) или IgM(H)), в периферические лунки – анализируемые образцы.

Реакцию преципитации можно использовать для полуколичественного определения титра антител. Для этого следует приготовить серию последовательных двукратных разведений исследуемого образца, используя натрия хлорид раствор 0,9 %, и внести их в лунки, расположенные по окружности. Центральную лунку заполнить растворенной моноспецифической сывороткой.

После внесения сывороток пластины поместить во влажную камеру и инкубировать в холодильнике при температуре (5±3) °С в течение 24 ч.

Учет результатов.

Проводят визуально. После инкубации в агаровом геле между лунками при наличии соответствующих антигенов и антител образуются линии преципитации. При полуколичественном определении наибольшее разведение антигена, при котором еще заметно образование преципитата, дает значение титра.

Радиальная иммунодиффузия (РИД) (по Манчини)

Приготовить предварительные разведения контрольной сыворотки крови человека натрия хлорида раствором 0,9 % в 2, 4 и 8 раз. Все разведения делать из исходного раствора.

Растворенные моноспецифические сыворотки (против IgG(H), IgA(H) и IgM(H)) в пробирках развести раствором натрия хлорида 0,9 % до концентрации в 2 раза превышающий титр, указанный на ампуле (например – при указанном титре 1 : 30, сыворотку следует развести в 15 раз), чтобы в дальнейшем при смешивании в равных объемах с растопленным агаровым гелем 2 % получилось заявленное разведение. Пробирки с разведенными сыворотками промаркировать и поставить для прогрева в термобаню с температурой (53±3) °С на 20-30 мин.

Растопленный агаровый гель 2 % тщательно смешать с равным объемом разведенной моноспецифической сыворотки (против IgG(H), IgA(H) или IgM(H)).

На стеклянную пластину нанести каплю смеси агарового геля и сыворотки, растереть ее по поверхности стеклянной палочкой и дать подсохнуть. Затем на пластину поместить П-образную рамку, накрыть второй пластиной, смазанной гидрофобной жидкостью, и скрепить зажимами. Таким образом приготовить пластины на каждый иммуноглобулин (IgG, IgA и IgM) отдельно.

Полученную смесь с помощью стеклянной пипетки залить в пространство между стеклянными пластинами. Пластину промаркировать по содержащейся в агаре сыворотке и поместить на 15-20 мин в холодильник при температуре (5±3) °С.

После застывания агарового геля снять зажимы, верхнее стекло и рамку. В слое геля прорезать пробойником несколько рядов лунок диаметром 2-3 мм на расстоянии 15 мм один от другого (рис. 4), агар из них удалить.

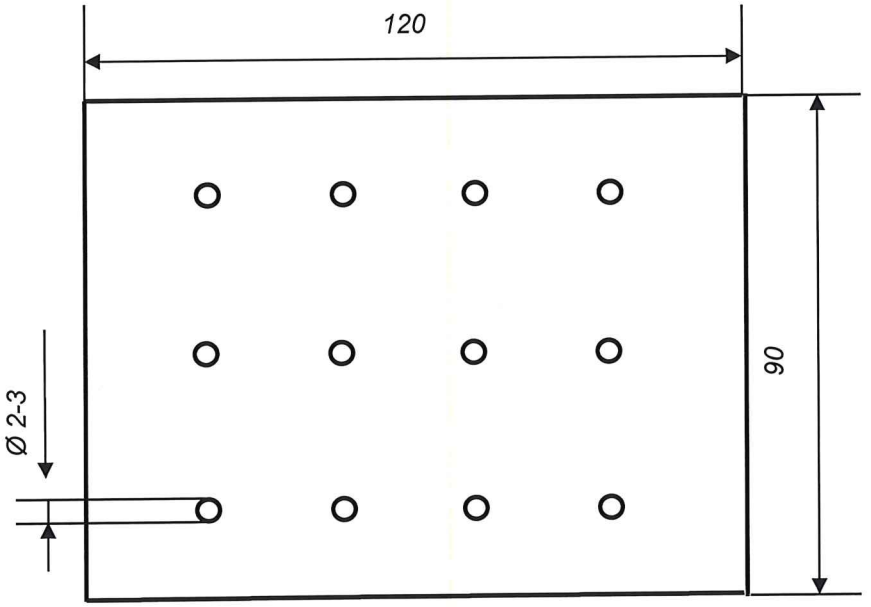


Рис. 4. Схема постановки радиальной иммунодиффузии (РИД).

В лунки первого ряда с помощью микрошприца внести контрольную сыворотку крови человека: неразведенную и в разведениях в 2, 4 и 8 раз. Лунки следующих рядов заполнить исследуемыми образцами. Контрольную сыворотку крови человека (неразведенную и в разведениях) и анализируемые образцы вносить в лунки на пластинах для определения IgG и IgA по 2 мкл, на пластине для определения IgM – по 3 мкл.

Пластины поместить во влажную камеру и инкубировать в холодильнике при температуре (5±3) °С: пластины для определения IgG и IgA в течение 24 ч, пластину для определения IgM – 48 ч.

Учет результатов.

После инкубации в агаровом геле образуются кольца преципитации.

Во многих случаях измерять диаметры колец преципитации можно на влажном агаровом

геле. Измерение проводить с помощью окулярного манометра, который прикладывают к обратной стороне пластин.

Пластины так же можно окрашивать. Для этого пластины поместить в кюветы, залить раствором натрия хлорида 0,9 % и выдержать в течение 16-18 ч для отмывания от непреципитировавших белков. Затем пластины с агаровым гелем накрыть фильтровальной бумагой, смоченной в растворе натрия хлорида 0,9 %, и высушить на воздухе до превращения агарового геля в тонкую пленку. С высушенных пластин снять фильтровальную бумагу и поместить их в кюветы с красящим раствором на 5-7 мин. Затем пластины отмыть в растворе для отмывки агарового геля после окрашивания в течение 5-10 мин и снова высушить.

На высушенных пластинах с помощью специальной линейки (например, линейки «Берингверке») измерять диаметры колец преципитации с точностью до 0,1 мм. По результатам измерения диаметров колец преципитации проводить вычисления концентраций иммуноглобулинов в исследуемых образцах.

Для этого на полулогарифмической бумаге построить систему координат: по оси абсцисс откладывать диаметры колец преципитации (в мм), а по оси ординат – концентрации иммуноглобулина (в МЕ/мл). Образовавшиеся точки соединить прямой линией. Таким образом построить графики для каждого иммуноглобулина в отдельности. Во избежание ошибок наклон этой кривой желательно иметь 40-50°.

Для определения уровня иммуноглобулина в исследуемом образце необходимо:

– на оси абсцисс отметить точку, соответствующую значению диаметра кольца преципитации исследуемой сыворотки;

– от полученной точки провести перпендикуляр до пересечения с кривой;

– точку пересечения спроецировать на ось ординат.

Полученное значение на оси ординат соответствует уровню иммуноглобулина в исследуемом образце, выраженном в МЕ/мл.

В случае, когда диаметр кольца преципитации исследуемого образца превышает значение диаметра кольца преципитации в неразведено контрольной сыворотке крови человека, образец следует развести натрия хлорида раствором 0,9% и повторить определение. Полученные результат умножить на величину разведения.

Концентрации для каждого иммуноглобулина можно вычислять и в весовых (мг/мл) единицах. Одна МЕ по международному референс-препарату иммуноглобулинов для IgG соответствует 0,0804 мг, для IgA – 0,0142 мг, для IgM – 0,00847 мг.

Примечание – Описанные выше построения и вычисления можно производить с помощью программы Microsoft Excel.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта при

температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С не более 14 сут.

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

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

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

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Рекламации по вопросам, касающимся качества и обращения изделия Набор реагентов Моно-РИД-G,A,M Сыворотки диагностические моноспецифические против IgG(H), IgA(H), IgM(H) человека сухие в течение срока годности с обязательным указанием серии и даты изготовления следует направлять в адрес Акционерное общество «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» (АО «НПО «Микроген»): Россия, 115088, г. Москва, ул. 1-я Дубровская, д. 15, строение 2, тел. (495) 710-37-87, e-mail: info@microgen.ru и в адрес производства: Россия, 603006, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, ул. Грузинская, д. 44, тел. (831) 434-42-77.

Взамен инструкции утвержденной 05.04.2018 г.