«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Л. Хусаинов
«13» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи

в сыворотке (плазме) крови

(ВектоРубелла-IgM)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Особую опасность краснуха представляет для беременных вследствие внутриутробной инфекции 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% 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).

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

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе.

На первой стадии ИФА анализируемые образцы инкубируют в лунках с иммобилизованным антигеном вируса краснухи. Имеющиеся в сыворотке специфические антитела к вирусу связываются с иммобилизованным антигеном. На второй стадии связавшиеся антитела выявляют при инкубации с конъюгатом антител к IgM человека с пероксидазой хрена.

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

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованным на внутренней поверхности антигеном вируса краснухи, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей IgM к вирусу краснухи, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец ($К^-$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий IgM к вирусу краснухи, готовый для использования – 1 флакон (3,0 мл);
- конъюгат моноклональных антител к IgM человека с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – 1 флакон (10 мл);

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– раствор для разведения сывороток (РРС) – 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 исследуемых 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 не менее $ОП_{крит.}$.

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 не более $0{,}8 \times ОП_{крит.}$.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (ГОСТ Р 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 пораженный 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 профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», 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 прием 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».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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±1)°С;
- холодильник бытовой;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 5–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы 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 можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток или при температуре минус 20°С (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°С.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°С 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°С в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

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

Приготовленный промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8°С 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°С в течение всего срока годности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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 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 крови хранить при температуре от 18 до 25°С 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.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки после проведения ИФА утилизировать (***не сливать во флакон с исходным конъюгатом***).

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°С 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.

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

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

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

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.

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!

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин при использовании всех лунок планшета.

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

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, посту-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

кивая 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)°С.

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°С.

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 ($ОП_{ср.}К^-$).

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

$$\mathbf{ОП_{крит.} = ОП_{ср.}\,К^- + 0{,}35}$$

где $ОП_{ср.}К^-$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным конт-рольным 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 0,25 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 $ОП_{обр} \leq 0{,}8 \times ОП_{крит.}$

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

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°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С 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°С. 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 набора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С 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°С 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°С в течение всего срока годности набора;
- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

10.5. Для получения надежных 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
«ВектоРубелла-IgM»,
обращаться в АО «Вектор-Бест»
по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-20-60, 227-75-43,
телефакс (383) 363-13-46, 363-35-55.
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 иммуноглобулинов класса М 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– используйте только одноразовые наконечники для дозаторов;

– не обрабатывайте дезинфицирующими растворами и моющими средствами посуду (ванночки), используемую для работы с конъюгатом и раствором ТМБ;

– в случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив 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 получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50).

Для получения правильного рабочего разведения исследуемых сывороток необходимо:

а) при отборе 10 мкл сыворотки для предварительного разведения не погружать наконечник глубоко в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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 $КП_{обр.} \leq 0{,}8$.

Результат анализа **неопределенный**, если $0{,}8 < КП_{обр.} < 1{,}0$.

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

5. Диагностическая значимость полученных результатов

Краснуха – острое вирусное заболевание средней тяжести и достаточно редко дает тяжелые осложнения. Однако первичная инфекция опасна для беременных женщин, т.к. вирус краснухи обладает высокой проникающей способностью через плаценту и выраженным тератогенным действием. Частота поражений плода зависит от сроков беременности. Заболевание краснухой в первый триместр беременности наиболее опасно и обуславливает врожденные уродства у будущего ребенка в 60–80% случаев. Это – задержка в развитии, поражения зрения и слуха, врожденные пороки сердца, поражения костей конечностей, черепа и др. Бессимптомное течение инфекции у беременных не снижает вероятность инфицирования плода.

Поскольку в 60–70% случаев первичная краснуха протекает бессимптомно, факт инфицирования можно установить только лабораторными исследованиями.

Комплекс методов диагностики краснухи дает возможность выявлять РНК вируса краснухи, специфические IgM и IgG, определять индекс авидности IgG. Что позволяет эффективно диагностировать первичную инфекцию, реинфекцию, паст-инфекцию, подтверждать инфицирование вирусом краснухи плода и/или новорожденного, дифференцировать краснуху от кори, ветряной оспы, иерсиниоза и пр.

РНК вируса краснухи обнаруживается в носоглоточных смывах, крови, моче с 5–7 дня от контакта и в типичных случаях детектируется в течение 7–10 дней после появления высыпаний.

Специфические IgM 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. Выявление специфических IgM свидетельствует о первичной инфекции. Для исключения ложноположительных результатов, обусловленных случайными ошибками при постановке анализа, необходимо проведение повторного анализа положительных сывороток. Ложноположительные результаты в непрямом методе ИФА могут быть обусловлены и наличием в испытуемой сыворотке ревматоидного фактора класса М. Увеличение концентрации IgM в парных образцах свидетельствует об острой инфекции. Если пациент обследуется в начале острой фазы заболевания, полученный отрицательный/неопределенный результат анализа на наличие специфических IgM еще не означает отсутствия инфицирования вирусом краснухи, т.к. в это время IgM к нему могут еще не появиться или быть в незначительном количестве. Поэтому рекомендуется взять кровь у пациента через 10–15 дней и вновь проанализировать ее параллельно с 1-м образцом сыворотки на наличие IgM и IgG для выявления сероконверсии и подтверждения факта инфицирования вирусом краснухи.

IgG к вирусу краснухи обнаруживаются на 5–7 день после появления клинических признаков, их концентрация достигает максимума через 4–5 недель и остается на высоком уровне длительное время.

Выявление сероконверсии или увеличения концентрации специфических IgG в образцах сыво-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

роток, взятых с интервалом 10–15 дней, свидетельствует о развитии инфекционного процесса. **При анализе парных сывороток для контроля изменения концентрации антител или наличия сероконверсии оба образца должны быть исследованы в одной постановке ИФА.**

Изменение концентрации IgG (Δ IgG) в парных сыворотках, выраженное в %, можно определить по формуле:

$$\Delta \text{ IgG} = \frac{C_2 - C_1}{C_1} \times 100\%$$

где: C1 – концентрация IgG в первом образце;

C2 – концентрация IgG во втором образце, взятом через 10–15 дней.

Если процент увеличения концентрации IgG в парных сыворотках:

< 30% – незначительное изменение в концентрации IgG. Низкая вероятность недавней инфекции. Если все-таки подозревается острая инфекция, необходимо взять 3-й образец через 10–15 дней и проанализировать все 3 образца параллельно, чтобы убедиться в увеличении концентрации IgG.

> 30% – статистически достоверное увеличение концентрации IgG. Недавно перенесенная первичная инфекция, реинфекция или реактивация.

Следует иметь в виду, что при низкой концентрации (15–25 МЕ/мл) специфические иммуноглобулины не всегда способны обеспечить полную защиту при повторном инфицировании, и пациенты с таким уровнем концентрации IgG могут быть отнесены к группе риска в отношении реинфекции вирусом краснухи. Поэтому рекомендуется проведение систематического серологического мониторинга беременных женщин, относящихся **к группе риска (с отсутствием IgG к вирусу краснухи или с их низкой концентрацией).** Выявление IgG к вирусу краснухи и определение их концентрации может быть использовано в клинике для подтверждения диагноза краснухи, а также для проведения сероэпидемиологических исследований.

Определение индекса авидности IgG к вирусу краснухи позволяет дифференцировать первичную инфекцию от реинфекции и паст-инфекции и определить примерные сроки инфицирования, что особенно важно для беременных женщин.

Если индекс авидности менее 40%, то сыворотка содержит низкоавидные антитела, что указывает на недавно перенесенную первичную инфекцию (заболевание первичной краснухой было 2–3 месяца назад).

Если индекс авидности более 60%, то сыворотка содержит высокоавидные антитела, что указывает на ранее перенесенную (более пяти месяцев назад) инфекцию.

Индекс авидности 40–60% – «пограничная» зона, установить срок инфицирования трудно, рекомендуется взять кровь у пациента через 20–30 дней и вновь проанализировать ее параллельно с 1-м образцом сыворотки. В случае недавнего первичного инфицирования индекс авидности должен увеличиться.

6. Список использованной литературы:

1. Гришаев М.П., Смердова М.А. Краснуха и ее диагностика // Бюллетень «Новости Вектор-Бест», 2002, № 23, С. 3–7.

2. Малкова Е.М., Петрова И.Д., Смердова М.А. и др. Клинико-иммунологическая характеристика краснухи в Западной Сибири // ЖЭМИ, 2007, № 2, С. 44–48.

3. Петров В.С., Гришаев М.П., Смердова М.А., Петрова И.Д. Краснуха и ее диагностика // Сибирский консилиум, 2002, № 2, С. 52–56.

4. Антипова А.Ю. Вирус краснухи и его тератогенное действие, патогенез, клиника, диагностика, профилактика синдрома врожденной краснухи // Инфекция и иммунитет, 2011, Т. 1, № 3, С. 231–242.

5. Кицак В.Я. Вирусные инфекции беременных: патология плода и новорожденных. Кольцово: Вектор-Бест, 2004. С. 22–57.

6. Vauloup-Fellous C., Grangeot-Keros L. Humoral immune response after primary rubella virus infection and after vaccination // Clinical and Vaccine Immunology, May 2007, P. 644–647.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. Краткая схема проведения ИФА для набора «ВектоРубелла-IgM»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести: по 100 мкл $К^+$, $К^-$;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.

Инкубировать: 30 мин, 37°С.

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 30 мин, 37°С.

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора ТМБ.

Инкубировать: 25 мин, 18–25°С, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

8. Графические символы

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

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

Таблица расхода компонентов набора реагентов

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru