

**НоваЛіза®**

# Ревматоїдний фактор IgM

**ІФА**

**CE**

Тільки для діагностики *in vitro*



Інструкції з використання

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19  
А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, [info@ivset.ua](mailto:info@ivset.ua) [www.ivset.ua](http://www.ivset.ua)

REF

RFM3010 (96 визначень)

## 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА-тест на ревматоїдний фактор ІgM призначений для кількісного визначення ревматоїдних факторів ІgM у сироватці або плазмі людини (цитрат, гепарин).

## 2. ПРИНЦИП ДОСЛІДЖЕННЯ

Кількісне імуноферментне визначення ревматоїдних факторів ІgM базується на методі ІФА (імуноферментний аналіз). Мікропланшети покривають Fc-фрагментами людського імуноглобуліну G (ІgG) для зв'язування відповідних антитіл зразка. Після промивання лунок для видалення всього незв'язаного матеріалу зразка додають кон'югат антитіл до людського ІgM, мічений пероксидазою хрому (HRP). Цей кон'югат зв'язується із захопленими ревматоїдними факторами. На другому етапі промивання незв'язаний кон'югат видаляють. Імунний комплекс, утворений зв'язаним кон'югатом, візуалізують шляхом додавання субстрату тетраметилбензидину (ТМБ), що дає синій продукт реакції. Інтенсивність цього продукту пропорційна кількості ревматоїдних факторів ІgM у зразку. Для зупинки реакції додають сірчану кислоту. Це утворює жовтий колір кінцевої точки. Поглинання при 450/620 нм зчитують за допомогою рідера мікротитровальних планшетів ІФА.

## 3. МАТЕРІАЛИ

### 3.1. Реагенти, що постачаються

- **Мікропланшет:** 12 8-лункових стріпів, що відламуються, покритих Fc-фрагментами людського ІgG; у багаторазовій алюмінієвій фользі.
- **ДП:** 1 пляшка, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для розведення зразка; рН 7,2 ± 0,2; жовтого кольору; готовий до використання спосіб використання; білий ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) СМІТ/МІТ (3:1).
- **СОЛН | СТОП:** 1 пляшка, що містить 15 мл сірчаної кислоти, 0,2 моль/л; готова до використання; червоний ковпачок.
- **WASH | BUF | 20x:** 1 флакон, що містить 50 мл 20-кратно концентрованого фосфатного буфера (0,2 М), рН 7,2 ± 0,2, для промивання лунок; білий ковпачок; 0,2% (мас./об.) 5-бром-5-нітро-1,3-діоксану.
- **Кон'югат:** 1 флакон, що містить 20 мл мічених пероксидазою антитіл до людського ІgM у фосфатному буфері (10 мМ); червоного кольору; готовий до використання; чорний ковпачок.
- **SUB | ТМБ:** 1 флакон, що містить 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ), < 0,1%; готовий до використання; жовтий ковпачок.
- **Низький рівень контролю:** 1 флакон, що містить 2 мл контрольного розчину; жовтого кольору; синій ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.
- **Високий рівень контролю:** 1 флакон, що містить 2 мл контрольного розчину; жовтого кольору; червоний ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.
- **Стандарти:** 6 флаконів, кожен з яких містить 2 мл стандарту; жовтого кольору; готовий до використання; жовтий ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ:

Стандарт А:	0	МОд/мл
Стандарт Б:	3	МОд/мл
Стандарт С:	10	МОд/мл
Стандарт D:	30	МОд/мл
Стандарт Е:	100	МОд/мл
Стандарт F:	300	МОд/мл

Стандарти калібровані відповідно до «Нереферентного матеріалу ВООЗ; Сироватка для лікування ревматоїдного артриту, 1»<sup>вуп.</sup> «Британський стандарт»; код NIBSC 64/002.

Щодо застережень та запобіжних заходів див. 11.1.

### 3.2. Матеріали, що постачаються

- 1 Покривна фольга
- 1 Інструкція із застосування (ІЗЗ)

### 3.3. Необхідні матеріали та обладнання

- Рідер для мікропланшетів ІФА, обладнаний для вимірювання поглинання при 450/620 нм
- Інкубатор 37 °С
- Ручне або автоматичне обладнання для промивання мікротитровальних планшетів
- Піпетки для подачі об'ємів від 10 до 1000 мкл
- Вихровий змішувач пробірок
- Дистильована вода
- Одноразові пробірки

## 4. СТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Зберігайте набір при температурі 2...8 °С. Відкриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, за умови зберігання при температурі 2...8 °С.

## 5. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Дуже важливо довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури (20...25 °С) та перемішати їх перед початком тестового запуску!

### 5.1. Мікропланшет

Розбірні стріпи покриті Fc-фрагментами людського ІgG. Відразу після видалення стріпів решту стріпів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із доданим осушувачем та зберігати при температурі 2...8 °С.

## 5.2. **WASH|BUF|20x**

Розбавити WASH|BUF|20x1 + 19; наприклад, 10 мл WASH|BUF|20x+ 190 мл дистильованої води. Розведений буфер (WASH|BUF|1x) стабільний протягом 5 днів за кімнатної температури (20...25 °C). У разі появи кристалів у концентраті, підігрійте розчин до 37 °C, наприклад, на водяній бані. Добре перемішайте перед розведенням.

## 5.3. **SUB|TMB**

Реагент готовий до використання та повинен зберігатися при температурі 2...8 °C, захищеному від світла місці. SUB|TMB має бути безбарвним або може мати легкий блакитний відтінок. Якщо SUB|TMB стає синім, можливо, він забруднився і його слід викинути.

## 6. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Використовуйте для цього аналізу зразки сироватки або плазми людини (цитрат, гепарин). Якщо аналіз проводиться протягом 5 днів після збору зразка, зразки слід зберігати при температурі 2...8 °C; в іншому випадку їх слід розділити на аліквоти та зберігати глибоко замороженими (-70...-20 °C). Якщо зразки зберігаються замороженими, добре перемішайте розморожені зразки перед тестуванням. Уникайте повторного заморожування та розморожування. Не рекомендується інактивація зразків теплом.

### 6.1. Розведення зразка

Перед аналізом усі зразки слід розбавити 1:100 ДІЛ. Видайте 10 мкл зразка та 1 мл ДІЛ у пробірки для отримання розведення 1+100 та ретельно перемішайте за допомогою вортексу.

## 7. ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

Будь ласка, уважно прочитайте інструкцію з використання перед проведенням аналізу. Надійність результату залежить від суворого дотримання інструкцій з використання, як описано. Наведена нижче процедура тестування валідована лише для ручного проведення. Якщо тест проводиться на автоматичних системах ІФА, ми рекомендуємо збільшити кількість кроків промивання з трьох до п'яти, а об'єм WASH|BUF|1x від 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефектів промивання. Зверніть увагу на розділ 11. Перед початком аналізу слід ретельно скласти план розподілу та ідентифікації всіх зразків і стандартів/контролів (рекомендується дублікати). Виберіть необхідну кількість мікростріпів або лунок та вставте їх у тримач.

Виконуйте всі кроки аналізу у зазначеному порядку та без будь-яких затримок.

Для дозування кожного стандарту/контролю та зразка слід використовувати чистий одноразовий наконечник.

Налаштуйте інкубатор на 37 ± 1 °C.

1. Розлийте по 100 мкл стандартів/контролів та розведених зразків у відповідні лунки. Залиште лунку A1 для бланка субстрату.
2. Накрийте лунки фольгою, що постачається в наборі.
3. **Інкубувати протягом 30 хвилин при температурі 37 ± 1 °C.**
4. Після завершення інкубації зніміть фольгу, аспіруйте вміст лунок та промийте кожну лунку тричі по 300 мкл WASH|BUF|1x. Уникайте переливання з реакційних лунок. Інтервал між промиванням та аспірацією має бути > 5 секунд. Наприкінці обережно видаліть залишки рідини, постукуючи стріпами об паперові серветки, перш ніж переходити до наступного кроку!  
Примітка: Промивання важливе! Недостатнє промивання призводить до низької точності та хибних результатів.
5. Розподіліть по 100 мкл кон'югату у всі лунки, окрім лунки A1 для бланка субстрату.
6. **Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C).** Не піддавайте впливу прямих сонячних променів.
7. Повторіть крок 4.
8. Видайте 100 мкл SUB|TMB у всі лунки.
9. **Інкубуйте рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) у темряві.** Синє забарвлення виникає внаслідок ферментативної реакції.
10. Видайте 100 мкл СОЛН|СТОП у всі лунки в тому ж порядку та з тією ж швидкістю, що й для SUB|TMB, в результаті чого відбувається зміна кольору з синього на жовтий.
11. Виміряйте поглинання при 450/620 нм протягом 30 хвилин після додавання СОЛН|СТОП.

### 7.1. Вимірювання

Встановіть рідер мікропланшетів ІФА на нуль, використовуючи бланк субстрату.

Якщо з технічних причин рідер мікротитровальних планшетів ІФА неможливо налаштувати на нуль за допомогою бланка субстрату, відніміть його значення поглинання від усіх інших вимірних значень поглинання, щоб отримати достовірні результати!

**Виміряйте поглинання** усіх лунок при 450 нм та запишіть значення поглинання для кожного стандарту/контролю та зразка.

Рекомендується біхроматичне вимірювання з використанням опорної довжини хвилі 620 нм.

**Де це можливо, обчисліть середні значення поглинання всіх дублікатів.**

## 8. РЕЗУЛЬТАТИ

### 8.1. Критерії перевірки виконання

Щоб аналіз вважався дійсним, необхідно суворо дотримуватися цих інструкцій із застосування та відповідати наступним критеріям:

- **Бланк субстрату:**Значення поглинання < 0,100
- **Стандарт А:**Значення поглинання < 0,200
- **Стандарт Б:**Значення поглинання > Стандарт А
- **Стандарт С:**Значення поглинання > Стандарт В
- **Стандарт D:**Значення поглинання > 0,100
- **Стандарт Е:**Значення поглинання > 0,400
- **Стандарт F:**Значення поглинання > 1,000
- **Контроль низького рівня:** Результат < 5 МОд/мл
- **Контроль високого рівня:** Результат > 20 МОд/мл

**Стандарт А < Стандарт В < Стандарт С < Стандарт D < Стандарт Е <**

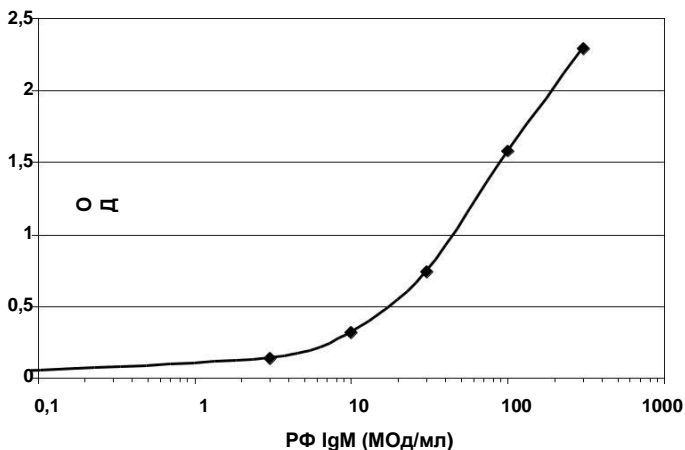
**Стандарт F** Якщо ці критерії не виконуються, тест недійсний і його необхідно повторити.

### 8.2. Розрахунок результатів

Щоб отримати кількісні результати в МОд/мл, нанесіть (середні) значення поглинання стандартів А–F на (лінійний/логарифмічний) міліметровий папір у системі координат відносно їхніх відповідних концентрацій та побудуйте калібрувальну криву стандарту (значення поглинання на осі y, концентрації на осі x).

Зчитайте результати з цієї калібрувальної кривої, використовуючи (середні) значення поглинання кожного зразка пацієнта та контролю.

### 8.3. Типова калібрувальна крива



### 8.4. Інтерпретація результатів

Підвищений	> 15 МОд/мл
Сумнівний	10 – 15 МОд/мл
Звичайний	< 10 МОд/мл

Діагноз захворювання не слід встановлювати на основі результатів одного тесту. Точний діагноз повинен враховувати клінічний анамнез, симптоматику, а також серологічні дані.

У пацієнтів з ослабленим імунітетом та новонароджених серологічні дані мають лише обмежену цінність.

## 9. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕКСПЛУАТАЦІЇ

Результати стосуються досліджених груп зразків; це не гарантовані характеристики.

### 9.1. Точність

В аналізі	н	Середнє значення (Е)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	24	1.170	1.0
#2	24	0,216	2.0
#3	24	2.127	2.1

Між аналізами	н	Середнє значення (МОд/мл)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	12	33,70	5.29
#2	12	148,63	6.41
#3	12	53,76	6.10

## 9.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність негативного результату аналізу за відсутності специфічного аналіту. Вона становить 94,12% (95% довірчий інтервал: 83,76% - 98,77%).

## 9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу за наявності специфічного аналіту. Вона становить 98,0% (95% довірчий інтервал: 89,35% - 99,95%).

## 9.4. Аналітична чутливість

Аналітична чутливість (згідно з CLSI EP17-A) визначається як видима концентрація аналіту, яку можна відрізнити від нульового калібратора. Вона становить 0,08 МОд/мл.

## 9.5. Перешкоди

Вплив на гемолітичні, ліпемічні або жовтяничні зразки не спостерігається до концентрації гемоглобіну 10 мг/мл, тригліцеридів 5 мг/мл та білірубіну 0,5 мг/мл.

## 9.6. Діапазон вимірювання

Діапазон вимірювання становить від 0,08 МОд/мл до 300 МОд/мл.

## 10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Бактеріальне забруднення або повторні цикли заморожування-розморожування зразка можуть впливати на значення поглинання.

## 11. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Процедуру тестування, інформацію, запобіжні заходи та попередження, що містяться в інструкціях із застосування, необхідно суворо дотримуватися. Використання тестових наборів з аналізаторами та подібним обладнанням має бути валідованим. Будь-які зміни в конструкції, складі та процедурі тестування, а також будь-яке використання в поєднанні з іншими продуктами, не схваленими виробником, заборонені; користувач сам несе відповідальність за такі зміни. Виробник не несе відповідальності за хибні результати та інциденти з цих причин. Виробник не несе відповідальності за будь-які результати візуального аналізу зразків пацієнтів.
- Тільки для діагностичного використання *in vitro*.
- Усі матеріали людського або тваринного походження слід розглядати та обробляти як потенційно інфекційні.
- Усі компоненти людського походження, що використовуються для виробництва цих реагентів, були протестовані на наявність антитіл до ВІЛ, антитіл до ВГС та HBsAg і виявилися нереактивними.
- Не замінюйте реагенти або мікротитровальні планшети різних виробничих партій.
- Не можна використовувати реагенти інших виробників разом з реагентами цього тестового набору.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
- Використовуйте лише чисті наконечники піпеток, дозатори та лабораторне посуд.
- Не міняйте місцями кришки флаконів з реагентами, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Щільно закривайте флакони з реагентами одразу після використання, щоб уникнути випаровування та мікробного забруднення.
- Після першого відкриття та подальшого зберігання перевірте флакони з кон'югатом та стандартом/контролем на наявність мікробного забруднення перед подальшим використанням.
- Щоб уникнути перехресного забруднення та хибно завищених результатів, піпетуйте зразки пацієнтів та дозуйте реагенти точно в лунки, не розбризкуючи їх.
- ІФА призначений лише для кваліфікованого персоналу, який дотримується стандартів належної лабораторної практики (GLP).
- Для подальшого внутрішнього контролю якості кожна лабораторія повинна додатково використовувати відомі зразки.

### 11.1. Примітка щодо безпеки для реагентів, що містять небезпечні речовини

Реагенти можуть містити СМІТ/МІТ (3:1) або МІТ (див.3.1).

Таким чином, застосовуються наступні заяви про безпеку та запобіжні заходи.

#### УВАГА

H317	Може викликати алергічну шкірну реакцію.
P261	Уникайте вдихання аерозолію.
P280	Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг.
R302+P352	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з милом.
R333+P313	Якщо виникне подразнення шкіри або висип: зверніться за медичною допомогою/консультацією.
R362+P364	Зніміть забруднений одяг та виперіть його перед повторним використанням.



Реагенти можуть містити 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан (див.3.1).

Таким чином, застосовуються наступні заяви про безпеку та запобіжні заходи.

#### УВАГА

H315	Викликає подразнення шкіри.
H319	Викликає серйозне подразнення очей
P280	Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг.
R302+P352	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з милом.
R305+P351+P338	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ В ОЧІ: Обережно промивайте водою протягом кількох хвилин. Зніміть контактні лінзи.
R337+P313	Якщо подразнення очей не проходить: зверніться за медичною допомогою/консультацією.



Додаткову інформацію можна знайти в паспорті безпеки.

### 11.2. Зауваження щодо утилізації

Залишки хімічних речовин та препаратів зазвичай вважаються небезпечними відходами. Утилізація таких відходів регулюється національними та регіональними законами та нормативними актами. Зверніться до місцевих органів влади або компаній з управління відходами, які нададуть вам поради щодо утилізації небезпечних відходів.

Інформацію про пакувальні матеріали див. у розділі ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ.


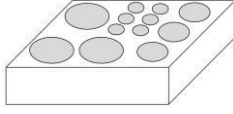




### 12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

REF	RFM3010	Ревматоїдний фактор IgM	(96 визначень)
-----	---------	-------------------------	----------------






### СКОРОЧЕННЯ

СМІТ	5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он
МІТ	2-метил-2Н-ізотіазол-3-он

### ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ

 PAP 21	 PAP 21	 PAP 22																	
<table border="1"> <tr> <td>SOLN</td> <td>STOP</td> <td>WASH</td> <td>BUF</td> <td>20x</td> <td>SUB</td> <td>TMB</td> <td>DIL</td> </tr> <tr> <td>СПІН</td> <td>КАЛ</td> <td>CONTROL</td> <td>H</td> <td>CONTROL</td> <td>L</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		SOLN	STOP	WASH	BUF	20x	SUB	TMB	DIL	СПІН	КАЛ	CONTROL	H	CONTROL	L			<table border="1"> <tr> <td>МТП</td> </tr> </table>	МТП
SOLN	STOP	WASH	BUF	20x	SUB	TMB	DIL												
СПІН	КАЛ	CONTROL	H	CONTROL	L														
МТП																			
 HDPE 2	 PP 5	 PET / ALU / LDPE 90																	

## УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

<b>REF</b>	№ Кат.:
<b>LOT</b>	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
<b>CONC</b>	Концентрат
<b>LYO</b>	Ліофілізований
<b>IVD</b>	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
	Містить біологічний матеріал людського походження
	Містить біологічний матеріал тваринного походження
<b>UDI</b>	Унікальна ідентифікація пристрою
	Дистриб'ютор
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

## РЕЗЮМЕ ПРОЦЕДУРИ ДОСЛІДЖЕННЯ

# СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ

Ревматоїдний фактор IgM

### Підготовка до тесту

Підготуйте реагенти та зразки, як описано.  
Розробіть план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів.  
Виберіть потрібну кількість мікростріпів або лунок та вставте їх у тримач.

### Процедура аналізу

	Бланк субстрату	Стандарт А - F	Низький рівень контролю	Контроль високого рівня	Зразок (розведений 1+100)
Бланк субстрату	-	-	-	-	-
Стандарт А - F	-	100 мкл	-	-	-
Низький рівень контролю	-	-	100 мкл	-	-
Контроль високого рівня	-	-	-	100 мкл	-
Зразок (розведений 1+100)	-	-	-	-	100 мкл
Накрийте лунки фольгою, що постачається в наборі <b>Інкубувати протягом 30 хвилин при температурі 37 ± 1 °C</b> Промийте кожну лунку тричі по 300 мкл <b>WASH   BUF   1x</b>					
<b>Кон'югат</b>	-	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
<b>Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C)</b> Не піддавайте впливу прямих сонячних променів Промийте кожну лунку тричі по 300 мкл <b>WASH   BUF   1x</b>					
<b>SUB   TMB</b>	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
<b>Інкубуйте рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) у темряві.</b>					
<b>SOLN/STOP</b>	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Фотометричне вимірювання при 450 нм (референтна довжина хвилі: 620 нм)					

### Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Вальдштрассе 23 А6 63128 Дітценбах, Німеччина

Тел.: +49 6074 23698-0

Факс: +49 6074 23698-900

Електрон

на пошта: [info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com](mailto:info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com)

Вебсайт: [clinical.goldstandarddiagnostics.com](http://clinical.goldstandarddiagnostics.com)