

1 день 1.04.2019

Знакомство с лабораторией и руководящими документами по организации деятельности клинических лабораторных исследований.

Работа с нормативными документами, регулирующими работу КДЛ.

Нормативные документы:

1. Приказ МЗ России № 380 от 25.12.1997 г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
2. Приказ МЗ России № 45 от 07.02.2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях Российской Федерации».
3. Приказ МЗ России № 220 от 26.05.2003 г. «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов».
4. СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".
5. СП 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»

2 день 2.04.19

Анализируемые образцы

Взятие венозной крови для исследования производится в пробирку с активатором свертывания и гелем в количестве не менее 2-4 мл.

Медицинский лабораторный технолог центрифугирует пробирку 15 минут при 3500 об/мин, отбирает сыворотку в промаркированную микроцентрифужную пробирку и отправляет, при необходимости хранения, в морозильную камеру.

Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови.

Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации и при температуре -20°C не более 6 месяцев. Следует избегать многократного замораживания, т.к. это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000 – 10000 об/мин в течение 5 мин при температуре 18-25°C.

Для отбора исследуемых образцов и компонентов набора реагентов использовать полуавтоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

Оборудование иммунологической лаборатории

Фотометр ANTHOS 2010



Anthos 2010 – это микропланшетный фотометр, предназначенный для использования в *in vitro* диагностике. Программное обеспечение ридера сочетает в себе гибкость, широкий спектр возможностей оценки теста и простоту использования. Фотометр 2010 комплектуется программой Adap plus, работает от обычного IBM-совместимого компьютера и/или интегрируется в лабораторную информационную систему.

Вошер Fluido



Автоматическое промывочное устройство (микропланшетный вошер) фирмы Anthos – Fluido упрощает и доводит до совершенства промывочную процедуру. Он может иметь 2 или 4 жидкостных канала и гребенки с 8, 12 и 16 парами иглок. Вошер программируется для автоматической промывки 96- или 384-луночных планшетов, можно юстировать

заливку, замачивание, аспирацию и встряхивание для рутинных тестов и сложных задач. Противоаэрозольная крышка и автоматическая система безопасности защищает пользователя.

Термошейкер PST-60HL-4



Термошейкер PST-60HL-4 предназначен для перемешивания стандартных 96 луночных планшетов в режиме термостатирования.

Отличительной особенностью планшетных термошейкеров фирмы BioSan является наличие запатентованного фирмой двустороннего нагрева планшеты,

позволяющего достичь полного соответствия установленной и реальной температуры в лунках планшет. Термошейкер обеспечивает нагрев до 60°C, что является достаточным для проведения реакции ИФА.

Автоматический иммуноферментный анализатор ALEGRIA



Анализатор ALEGRIA представляет собой полностью автоматизированную систему для проведения иммуноферментного анализа сывороток в которой объединены дозатор стандартов и реагентов, инкубатор, промывочное устройство и фотометр.

Анализатор обеспечивает высокую производительность и точность лабораторных исследований, предназначен для диагностики аутоиммунных и инфекционных заболеваний. Самый широкий спектр маркёров для диагностики аутоиммунных патологий (более 80 маркеров). Свыше 30 диагностических маркёров инфекционных заболеваний.

3 день 3.04.19

Метод иммуноферментного выявления и подтверждения IgM и IgG к вирусу гепатита С в сыворотке или плазме крови тест – системой «Бест анти – ВГС», производитель ЗАО «Вектор – Бест».

Подготовка исследуемых образцов

Этапы проведения анализа

1. Необходимо вскрыть фольгированный пакет со стороны короткого шва, отступив один сантиметр от края пакета. Вынуть необходимое количество стрипов, остальные закрыть в пакете пластиковой застежкой.

2. Перед началом анализа лунки стрипов промыть 1 раз промывочным раствором. В каждую лунку внести по 400 мкл раствора. Через 5 минут после заполнения лунок раствор аккуратно удалить в сосуд с дез. Раствором. Остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

3. Во все лунки стрипов внести по 60 мкл раствора для разведения сывороток (РС).

4. Внести контрольные образцы.

- по 1 лунке двух вертикальных рядов – 40 мкл K+;

- по 2 лунке двух вертикальных рядов – по 40 мкл K-

В остальные лунки внести по 40 мкл исследуемых образцов сыворотки крови в лунки двух вертикальных рядов, перемешать пипетированием не менее 4 раз.



5. Инкубация

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термошейкере 500 об/мин в течение 30 мин при температуре 37°C.

6. Промывка

По окончании инкубации снять липкую пленку и пометить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором, чередуя аспирацию и немедленное заполнение каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7. Внесение конъюгата.

Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата в рабочем разведении.

8. Инкубация.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термошейкере в течение 30 мин при температуре 37°C.

9. Промывка

По окончании инкубации промыть планшет как описано выше.

10. Внесение ТМБ.

Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

11. Инкубация

Инкубировать в темноте в течение 20 мин при температуре от 18 до 25°C.

12. Внесение стоп – реагента.

Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп – реагент.

Регистрация результатов

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.

Расчет результатов анализа

По результатам ИФА для каждого антигена рассчитать значение критической оптической плотности (ОП крит) по формулам:

$$\text{ОПкрит (core)} = \text{ОПср (К-)} \text{ core} + 0,2$$

$$\text{ОПкрит (NS)} = \text{ОПср (К-)} \text{ NS} + 0,2$$

Для интерпритации результатов исследования сывороток использовать коэффициент позитивности (КП), который рассчитать для каждого антигена по формулам:

$$\text{КП(core)} = \text{ОПиссл.сыв (core)} / \text{ОПкрит.(core)},$$

$$\text{КП(NS)} = \text{ОПиссл.сыв (NS)} / \text{ОПкрит.(NS)}.$$

Если ОП К – и исследуемых образцов сывороток имеют отрицательные значения, при расчете ОПкрит и анализе результатов считать их равного нуля.

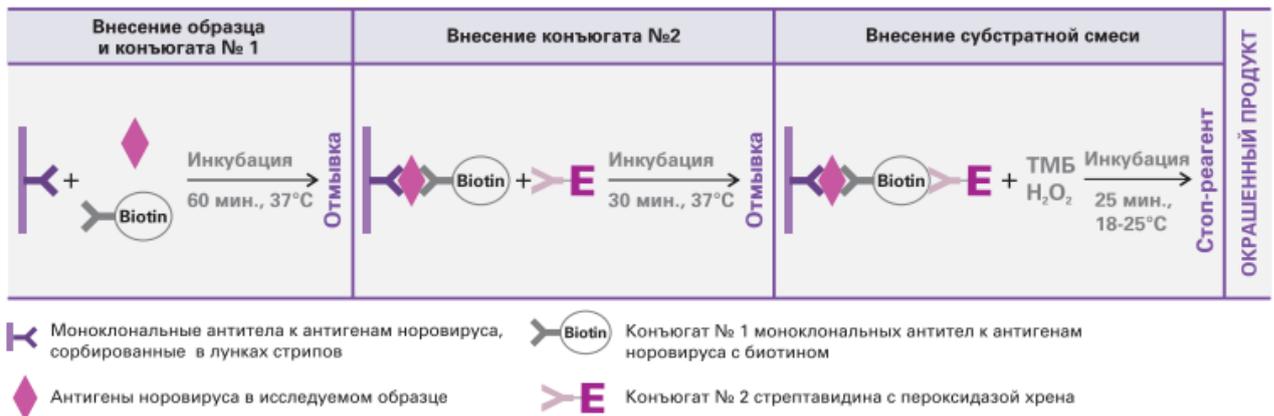
Если КП для каждого антигена меньше 1, исследуемый образец расценивать как отрицательно реагирующий и не имеющий антител к структурным и неструктурным белкам, используемым в данном наборе.

Если $\text{КП} \geq 1$ хотя бы для одного антигена, исследуемый образец расценивать как положительно реагирующий в данном наборе.

4 день 4.04.19

Метод иммуноферментного выявления антигена норовируса геногрупп I и II тест системой «Норовирус – антиген – ИФА – Бест», производитель ЗАО «Вектор – Бест».

>> Схема анализа



5 день 5.04.19

Исследование гуморального звена иммунитета

