

EC DECLARATION OF CONFORMITY

ZAO "Vector-Best" hereby ensures under own responsibility and declares that the products listed on pages 2-4 are in conformity with applicable provisions and fulfill the essential requirements of Annex I Directive 90/269/EEC of 27 October 1990 regarding in vitro diagnostic medical devices.

Classification of products:

Other devices (all devices except Annex II and self-testing devices)

Conformity assessment procedure:

Annex III (not including section B).

Manufacturer:

ZAO "Vector-Best"
Address: AHC, Kojitsovo,
Novosibirsk Region, 630559, Russia
Tel: +7 (383) 363 20 60,
Fax: +7 (383) 363 35 55

European authorized representative:

Bioron GmbH,
Friedenstraße 18, D-67071
Ludwigshafen (Germany)
Tel: +49 (0) 621 5720 916,
Fax: +49 (0) 621 5720 916

Date: 2013/04/12

Murat Khusainov
General Director ZAO «Vector-Best»

No.	Product name	Identification data	REF
1	Vectorp A-IgM	ELISA kit for determination of IgM to hepatitis A virus	D-0352
2	Vectorp A-IgG	ELISA kit for quantitative and qualitative determination of IgG to hepatitis A virus	D-0352
3	Vectorp TTV-IgG	ELISA kit for determination of IgG to TT virus	D-0802
4	Vectorp E-IgG	ELISA kit for determination of IgG to hepatitis E virus	D-1056
5	Vectorp E-IgM	ELISA kit for determination of IgM to hepatitis E virus	D-1056
5	Vectorp G-IgG	ELISA kit for determination of IgG to hepatitis G virus	D-1252
7	LymeBest-IgG	ELISA kit for determination of IgG to infectious borreliosis agents	D-1452
8	LymeBest-IgM	ELISA kit for determination of IgM to infectious borreliosis agents	D-1454
9	RecombBest antipallidum-IgG	ELISA kit for determination of IgG to Treponema pallidum	D-1882
10	RecombBest antipallidum-total antibodies	ELISA kit for determination of total antibodies to Treponema pallidum	D-1886
11	RecombBest antipallidum-IgM	ELISA kit for determination of IgM to Treponema pallidum	D-1888
12	RecombBest antipallidum-total antibodies	ELISA kit for determination of total antibodies to Treponema pallidum	D-1897
13	VectorHSV-1,2 - IgG	ELISA kit for determination of IgG to herpes simplex virus types 1 and 2	D-2182
14	VectorHSV - IgM	ELISA kit for determination of IgM to herpes simplex virus types 1 and 2	D-2184
15	VectorHV-8 - IgG	ELISA kit for determination of IgG to human herpes virus type 8	D-2188
16	VectorHV-6 - IgG	ELISA kit for determination of IgG to human herpes virus type 6	D-2186
17	Ureaplasma urealyticum IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG to Ureaplasma urealyticum antibodies	D-2254
18	Ureaplasma urealyticum IgA-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgA to Ureaplasma urealyticum antibodies	D-2258
19	VectorParotitis-IgG	ELISA kit for determination of IgG to parotitis virus	D-2602
20	VectorParotitis-IgM	ELISA kit for determination of IgM to parotitis virus antibodies	D-2604
21	Toxocara-IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG to toxocara antibodies	D-2762
22	Opisthorchiasis - IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG to opisthorchiasis antibodies	D-2952
23	Echinococcus-IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG to Echinococcus antibodies	D-3358

24	Ascend-IgG-EIA-BEST	antigens ELISA kit for determination of IgG to Ascaris lumbricoides	D-3452
25	Lambia-antibodies-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG, IgM and IgA to Lambia antibodies	D-3552
26	Lambia-IgM-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgM to Lambia antibodies	D-3554
27	Lambia-antigen-EIA-BEST	ELISA kit for determination of Lambia antigen	D-3556
28	Helicobacter pylori-Caiga-antigen-EIA-BEST	ELISA kit for determination of total antibodies to Caiga Helicobacter pylori	D-3752
29	TSH-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of thyroid-stimulating hormone	X-3852
30	T3 total-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of total triiodothyronine	X-3854
31	T4 total-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of total thyroxine	X-3956
32	Anti-TPO-EIA-BEST	ELISA kit for determination of antibody concentration to thyroperoxidase	X-3968
33	PAPP-A-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of pregnancy-associated plasma protein A	D-4150
34	Mycoplasma hominis-IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG to Mycoplasma hominis	D-4352
35	Mycoplasma hominis-IgA-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgA to Mycoplasma hominis	D-4358
36	Mycoplasma pneumoniae-IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG to Mycoplasma pneumoniae	D-4362
37	Mycoplasma pneumoniae-IgM-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgM to Mycoplasma pneumoniae	D-4366
38	Vectormean - CHF - IgG	ELISA kit for determination of IgG to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus	D-5052
39	Vectormean - CHF - IgM	ELISA kit for determination of IgM to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus	D-5054
40	CEA-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of carcinoembryonic antigen	T-8454
41	AFP-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of Alpha-Fetal Protein	T-8456
42	CA 125-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of oncomarker CA-125	T-8466
43	CA 19-9-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of CA 19-9	T-8470
44	CA 15-3-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of oncomarker CA 15-3	T-8472
45	NSE-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of neuron specific esterase	T-8476

46	Ferritin-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of Ferritin	T-8552
47	IgE total-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of total IgE	A-6680
48	IgG total-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of total IgG	A-8682
49	IgM total-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of total IgM	A-8684
50	IgA total-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of total IgA	A-8686
51	Gamma-interferon-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of gamma-interferon	A-8752
52	Interleukin-4-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of interleukine-4	A-8754
53	Alpha-TNF-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of alpha tumor necrosis factor	A-8756
54	Alpha-Interferon-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of alpha-interferon	A-8758
55	Interleukin-6-EIA-BEST	ELISA kit for detection of concentration of interleukine-6	A-8768
56	Interleukin-2-EIA-BEST	ELISA kit for detection of concentration of interleukine-2	A-8772
57	Procalcitonin-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of procalcitonin	A-9004
58	NitroBNP-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of NitroBNP	A-9102
59	Toponin I-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of Toponin I	A-9106
60	HESAg-EIA-BEST kit 2	ELISA kit for the detection of HES-antigen	D-0543
61	HESAg-EIA-BEST kit 3	ELISA kit for the detection of HES-antigen	D-0544
62	Vector-BcAg antibodies	ELISA kit for the detection of BcAg antibodies	D-0566
63	Hepatitis anti-HBc-IgG	ELISA kit for the detection of anti-HBc-IgG	D-0574
64	Best anti-HCV (set 2)	ELISA kit for the detection of anti-HCV-IgG	D-0773
65	Best anti-HCV (set 2)	ELISA kit for the detection of anti-HCV-IgG	D-0772
66	Best anti-HCV (set 2)	ELISA kit for the detection of anti-HCV-IgG	D-0982
67	Vector-D-IgM	ELISA kit for the detection of anti-D-IgM	D-1984
68	Chlamydia tr. IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgG to Chlamydia trachomatis	D-1986
69	Chlamydia tr. IgM-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgM to Chlamydia trachomatis	D-1988
70	Chlamydia tr. IgA-EIA-BEST	ELISA kit for determination of IgA to Chlamydia trachomatis	D-1556
71	CMV-IgG-EIA-BEST	ELISA kit for determination of concentration of CMV-IgG	D-1552
72	VectorCMV-IgM	ELISA kit for determination of concentration of CMV-IgM	D-1552



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов классов А, М, G
к антигенам лямблий
в сыворотке (плазме) крови

Лямблия-антитела – ИФА – БЕСТ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 21.07.2011
приказом Росздравнадзора № 4449-Гр/11

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-3552

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Лямблия-антитела ИФА-БЕСТ предназначен для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов А (IgA), М (IgM), G (IgG) к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови.

1.2. Лямблиоз — часто встречающаяся паразитарное заболевание тонкого кишечника человека, вызываемое *Giardia lamblia* — представителем семейства *Protozoae*. Лямблии существуют в двух отдельных формах — цистах (статическая форма) и трофозоидах (пролиферативная форма).

1.3. Заражение человека происходит орально-фекальным, при попадании цист лямблий в желудочно-кишечный тракт. Источник инвазии — некипяченая питьевая вода, вода водоемов, немелкие фрукты и овощи, грязные руки и контакт с домашними животными.

Традиционно диагностика лямблиоза проводится микроскопическим методом по обнаружению цист или трофозоитов в образцах фекалий или дуоденальном содержимом.

Дополнительным методом диагностики лямблиоза является иммуноферментный анализ (ИФА), основанный на обнаружении в крови инвазированного антител, специфичных к антигенам лямблий.

Определение иммуноглобулинов различных классов к антигенам лямблий целесообразно дополнительно включать в комплексное

D-3552

3

обследование детей с аллергическими симптомами, дерматитами, гастродуоденитами, а также часто болеющих детей. Это способствует более надежному выявлению лямблиозной инвазии, позволяет своевременно провести специфическое лечение и в последующем осуществить контроль его эффективности.

1.4. Набор рассчитан на проведение 96 анализов образцов сыворотки (плазмы) крови, включая контроли, или 12 независимых постановок ИФА по 8 определений, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения суммарных антител к антигенам лямблий представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ. Специфическими компонентами набора реагентов являются антителы лямблий, иммобилизованные в лунках планшетов, конъюгат моноклональных антител к IgA, IgM, IgG человека с пероксидазой хрена, положительный и отрицательный контрольные образцы.

На первой стадии анализа при взаимодействии исследуемых образцов сывороток крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами лямблий происходит связывание специфических антител и образование комплекса «антиген-антитело» на поверхности лунок. После удаления несвязавшихся компонентов сыворотки и добавления в лунки планшета конъюгата

4

D-3552

Моноклональных антител к IgA, IgM, IgG человека с пероксидазой хрена происходит включение ферментной метки в иммунный комплекс. После второй отмывки количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы — перекиси водорода и хромогена — тетраметилбензидина. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-волна в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации суммарных антител к антигенам ламблий в анализируемом образце сыворотки.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунки антигенами ламблий, готовый для использования — 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K⁺) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий IgA, IgM, IgG к антигенам ламблий, готовый для использования — 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K⁻) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий IgA, IgM, IgG к антигенам ламблий, готовый для использования — 1 флакон (2,5 мл);

- конъюгат моноклональных антител к IgA, IgM, IgG человека с пероксидазой хрена, концентрат — 1 флакон (1,5 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) — 1 флакон (10,0 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) — 1 флакон (12,0 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) — 1 флакон (28,0 мл);
- субстратный буферный раствор (СБР) — 1 флакон (13,0 мл);
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ) — 1 флакон (1,0 мл);
- стоп-реагент (0,5 М серная кислота), готовый для использования — 1 флакон (12,0 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленками для заклеивания планшета — 2 шт.;
 - ванночками 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. Перекрестные реакции

Перекрестные реакции при описанной системе, токсокарозе, эхинококкозе, трихинеллезе, аскаридозе не выявлены.

3.2. Специфическая активность

Чувствительность выявления иммуноглобулинов классов А, М, G к антигенам ламблий — следствие результатов выявления набором IgA, IgM, IgG к антигенам ламблий требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-134), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» — составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с положительными сыворотками больше либо равны величине диагностического значения оптической плотности.

Специфичность выявления иммуноглобулинов классов А, М, G к антигенам ламблий — следствие результатов выявления набором IgA, IgM, IgG к антигенам ламблий требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-134), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» — составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с отрицательными сыворотками меньше либо равны величине диагностического значения оптической плотности, умноженного на 0,85.

3.3. Типр стандартного образца предприятия СОП+ (рег. № 05-2-17), аттестованного ОБТК АО «Вектор-Бест», должен быть не менее 1:800.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

D-3552

7

4.2. Все компоненты набора являются не-токсичными. 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 набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министрства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как в состав набора входят компоненты крови человека, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных 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.

8

D-3552

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, комбинарованные 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.

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 при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ C$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноразовые с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и схожимости результатов пипетирования;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать

- объемы жидкостей от 5 мкл до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и схожимости результатов пипетирования;
- промывочное устройство для планшетов;
 - перчатки резиновые или пластиковые;
 - бумага фильтровальная лабораторная;
 - флаконы вместимостью 15 мл;
 - цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
 - вода дистиллированная;
 - дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку, содержащую азид натрия.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8 $^\circ C$ не более 5 суток или при температуре минус 20 $^\circ C$ (и ниже) не более 3 мес. Допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови. После размораживания образцы тщательно перемешать.

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

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°C в течение времени не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета

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

Неиспользованные стрипы можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление рабочего буферного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Тх25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. 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 рабочий буферный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.*

D-3552

11

7.4. Подготовка положительного (K⁺) и отрицательного (K⁻) контрольных образцов

Контрольные образцы готовы к использованию. Перед использованием встряхнуть.

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

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, тцпатель-но перемешать. При этом темно-красный цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, ИФА данного образца может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

Предварительно разведенные исследуемые образцы можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.

7.6. Приготовление рабочего раствора конъюгата

Готовится в отдельном чистом флаконе или в пластиковой ванночке для реагента из концен-

12

D-3552

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во одновременно используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбен-зидина		Рабочий буферный раствор	
	Конъюгат, концентрат, мл	РБР, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	0,1	1,0	0,05	1,0	2,0	до 50
2	0,2	2,0	0,10	2,0	4,0	до 100
3	0,3	3,0	0,15	3,0	6,0	до 150
4	0,4	4,0	0,20	4,0	8,0	до 200
5	0,5	5,0	0,25	5,0	10,0	до 250
6	0,6	6,0	0,30	6,0	12,0	до 300
7	0,7	7,0	0,35	7,0	14,0	до 350
8	0,8	8,0	0,40	8,0	16,0	до 400
9	0,9	9,0	0,45	9,0	18,0	до 450
10	1,0	10,0	0,50	10,0	20,0	до 500
11	1,1	11,0	0,55	11,0	22,0	до 550
12	1,2	12,0	0,60	12,0	24,0	до 600

тратя конъюгата и рабочего буферного раствора не более, чем за 5–10 мин до окончания первой инкубации.

Рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.

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

D-3552

13

7.7. Приготовление рабочего раствора ТМБ

Готовится в отдельном чистом флаконе или в пластиковой ванночке для реагента из концентрата ТМБ и СБР не более, чем за 5-10 мин до окончания первой инкубации.

Рабочий раствор ТМБ можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.

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

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя омывать 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 омывать дистиллированной водой.

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внесение контрольных образцов

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

14

D-3552

7.10. Внесение исследуемых образцов сыворотки (плазмы)

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.5.), тщательно перемешать.

Для повышения достоверности результатов исследуемые образцы рекомандуются анализировать в дублях, используя для каждого образца по две лунки.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 5–7 мин.

7.10.1. Определение титра исследуемых образцов

При определении титра антиген тестирование исследуемых образцов произвести в семи последовательных двукратных разведениях в интервале от 1:100 до 1:12800. В соответствующие лунки горизонтального ряда А внести по 180 мкл РРС и по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.5.), тщательно перемешать. В соответствующие лунки рядов В-Н внести по 100 мкл РРС. Каждый образец титровать, перенося по 100 мкл раствора из лунки предыдущего ряда в лунки последующего от А до Н, тщательно перемешивая пипетированием. После раститровки из каждой лунки последнего ряда Н удалить в дезинфицирующий раствор по 100 мкл раствора, оставая в лунках по 100 мкл.

D-3552

15

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

7.12. 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 лунки каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунки должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунки после каждого цикла промывки.* По окончании промывки остатки влаги из лунки тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.

Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники.

Оставшийся после проведения ИФА рабочий раствор конъюгата из флакона или пластиковой ванночки удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

7.15. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунки и промыть планшет, как указано в п. 7.12.

16

D-3552

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора ТМБ (см п. 7.7.):

Для внесения рабочей раствора ТМБ использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники.

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

Оставшийся после проведения ИФА рабочий раствор ТМБ удалить из стеклянного флакона или пластиковой ванночки в сосуд с дезинфицирующим раствором.

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

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществляется по воздуху). Измерение проводить не позднее 5 мин после остановки реакции.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать средние арифметические значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср} К⁻).

D-3552

17

9.2. Среднее значение ОП в лунках с К⁻ не должно превышать 0,30 ед. опт. пл.

Значение ОП в лунке с К⁺ должно быть не менее, чем 0,80 ед. опт. пл.

9.3. Только при соблюдении положений п. 9.2. можно учитывать результаты, полученные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

9.4. На основании полученных данных вычислить диагностическое значение оптической плотности (ОП_д).

$$\text{ОП}_d = \text{ОП}_{\text{ср. К}^-} + 0,2$$

9.5. Результат анализа считается **положительным**, если $\text{ОП}_{\text{обр.}} \geq \text{ОП}_d$.

Результат анализа считается **отрицательным**, если $\text{ОП}_{\text{обр.}} \leq 0,85 \times \text{ОП}_d$.

где ОП_{обр.} – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом сыворотки (плазмы) крови.

Результат анализа считается **сомнительным**, если $0,85 \times \text{ОП}_d < \text{ОП}_{\text{обр.}} < \text{ОП}_d$. Рекомендуется повторно провести иммуноферментный анализ данного образца.

9.6. За титр положительной сыворотки (плазмы) принимают ее наибольшее разведение, при котором оптическая плотность образца $\text{ОП}_{\text{обр.}} \geq \text{ОП}_d$.

18

D-3552

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности (9 мес). Замораживание компонентов набора не допускается.

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

- неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить в закрытом на замок пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, субстратный буферный раствор, раствор для разведения сывороток, раствор для предварительного разведения сывороток, концентрат конъюгата, концентрат тетраметилбензидина и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- положительный и отрицательный контрольные образцы можно хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;

D-3552

19

- рабочий буферный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток;
- рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре от 18 до 25°С не более 3 ч;
- рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить при температуре от 18 до 25°С не более 3 ч.

10.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме специфических компонентов (ФСБ-Т×25, СБР, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

По вопросам, касающимся качества набора «Лямблиа-антигена-ИФА-БЕСТ»,
обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:
630559, Новосибирская обл.,
Новосибирский район, п. Колыцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vrbobk@vector-best.ru

20

D-3552

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, содержащиеся в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антигена 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 классов А, М и G 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.

D-3552

21

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 материала 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 государственного надзора 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 (утилизироваться) в соответствии

22

D-3552

с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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 субстрата;
- 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);

D-3552

23

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и рабочего раствора ТМБ;
- перед отбором ТМБ из флакона необходимо обработать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ;
- 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 планты и емкости 70% этиловым спиртом.

24

D-3552

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

4. Количественная оценка результатов анализа

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно ОП_Д (п. 9.4.).

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих $ОП_{450} \leq 3,5$ о.е., использовать формулу:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{450\text{ о6р.}}}{ОП_{Д}}$$

где ОП_{450 о6р.} — ОП образца, полученная в двухволновом режиме 450 / 620–655 нм (или только с фильтром 450 нм).

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих $ОП_{450} > 3,5$ о.е., использовать формулу:

$$КП_{обр.} = 3,2 \times \frac{ОП_{450\text{ о6р.}}}{ОП_{Д}}$$

где ОП_{405 о6р.} — ОП образца, полученная в двухволновом режиме 405 / 620–655 нм (или только с фильтром 405 нм).

D-3552

25

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

Результат анализа **отрицательный**, если $КП_{обр.} \leq 0,85$.

Результат анализа **сомнительный**, если соответствующее ему значение $КП_{обр.}$ попадает в интервал от 0,85 до 1,0.

Расчет КП целесообразно проводить для оценки концентрации специфических антител в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации суммарных антител к антигенам ламблий в динамике в парных образцах сывороток.

5. Диагностическая значимость полученных результатов

Лямблии обитают в проксимальном отделе тонкой кишки, поэтому для лямблиоза характерно развитие местных иммунологических реакций. Однако и в сыворотках крови инвазированных лямблиями людей выявляются антитела к антигенам ламблий, относящиеся к различным классам иммуноглобулинов. Показано, что падание антитенов ламблий в периферическую кровь увеличивается при резорбции слизистой оболочки кишечника, проницаемость которой, как известно, возрастает при ее воспалении. В связи с этим выявление антител к антигенам ламблий в сыворотке крови может свидетельствовать о наличии патологического процесса.

26

D-3552

6. Краткая схема проведения ИФА
Для набора реагентов
«Лямблия-антигена-ИФА-БЕСТ»













Использовать только после тщательного 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°С.
- Промыть:** рабочим буферным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°С.
- Промыть:** рабочим буферным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.
- 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.

D-3552

27

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) 363-35-56.

14.05.18.

28

D-3552

ВЕКТОР

ВЕСТА

Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
антигена аденовируса человека

Аденовирус-антиген – ИФА – ВЕСТ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 21.09.2012
Приказом Росздравнадзора № 1537-Пр/12

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1654

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Аденовируса-антиген – ИФА – БЕСТ (далее по тексту – набор) предназначен для выявления антигена аденовируса человека методом твердофазного иммуноферментного анализа в фекалиях больных острыми гастроэнтеритами и контактных лиц.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контроли, или 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе.

Специфическими компонентами набора являются моноклональные антитела к антигенам аденовируса человека, иммобилизованные в лунках планшета; конъюгат моноклональных антител к аденовирусу с пероксидазой хрена и контрольный положительный образец.

Принцип метода заключается во взаимодействии антигена аденовируса с моноклональными антителами, иммобилизованными в лунках полистиролового планшета. Комплекс «антиген–антитело» выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата.

Количество связавшегося конъюгата выявляют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена –

тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации антигена аденовируса в анализируемом образце.

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании рассчитанного значения ОП_{крит.} анализируемые образцы оцениваются как положительные или отрицательные.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилучных стрипов) с иммобилизованными моноклональными антителами к антигену аденовируса человека, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K⁺) – буферный раствор, содержащий инaktivированный антиген аденовируса человека, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K⁻) – буферный раствор, не содержащий антиген аденовируса человека, готовый для использования – 1 флакон (2,5 мл);
- конъюгат, концентрат – моноклональные антитела к аденовирусу, меченные пероксидазой хрена – 1 флакон (1,5 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевой буферный раствор с твином (ФСБ-Тх25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор для образцов (РО), концентрат – 1 флакон (20 мл);
- раствор для разведения конъюгата (РРК) – 1 флакон (13 мл);

- субстратный буферный раствор (СБР) - 1 флакон (13 мл);
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат - 1 флакон (1,0 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования - 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленками для заклеивания планшета - 2 шт.;
- ванночками для реагента - 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 5-200 мкл - 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность.

Набор должен выявлять антиген аденовируса в реакции иммуноферментного анализа в СОП+ (рег. № 05-2-361) и положительном контрольном образце (K⁺); и не выявлять в отрицательном контрольном образце (K⁻).

Титр антигена аденовируса в СОП+ должен быть не менее 1:32.

Среднее значение оптической плотности оптимального контрольного образца (ОП_{ср.} K⁻) не должно превышать 0,2; ОП положительного контрольного образца должно быть не ниже 1,0.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора - класс 1.

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздража-

ющим 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 лечебно-профилактических учреждениях» утвержденной Минздравом СССР 17 февраля 1991 г. и методических указаниях МУ-287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» от 30.12.1998 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки.

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.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- pipетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл (погрешность не более 5%);
- pipетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл (погрешность не более 5%);
- промыватель для планшетов автоматический или ручной;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- пробирки вместимостью 1,5 мл;

D-1654

7

- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Образцы фекалий человека.

Для выявления антигена аденовируса в фекалиях предварительно приготовить экстракт 20%-ной суспензии фекалий на рабочем растворе для образцов (см. п. 7.5). Образцы фекалий собирать в стерильные флаконы (пробирки) с пробкой вместимостью 10 мл. Фекалии в количестве 1 г ($\frac{1}{4}$ флакона) встряхнуть с 5,0 мл рабочего раствора для образцов до получения гомогенной взвеси, центрифугировать при 3000 об/мин в течение 30 мин. Исследуют надосадочную жидкость. Для выявления АГ аденовируса можно использовать как свежеприготовленные образцы, так и хранившиеся при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ в течение 24 часов, либо замороженный при минус 20 $^\circ\text{C}$ в течение не более 3 месяцев.

Полученные экстракты допускается хранить до анализа не более 24 ч при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ или до 3 мес при температуре минус 20 $^\circ\text{C}$ и ниже. При необходимости многократного исследования, экстракты следует разделить на несколько порций, чтобы избежать повторного замораживания.

8

D-1654

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°C не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов; остальные стрипы снять с рамки и немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Положительный и отрицательный контрольные образцы (K⁺ и K⁻) даны в рабочем разведении и не требуют дополнительного разведения.

7.4. 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

D-1654

9

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 можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.*

7.5. Приготовление рабочего раствора для образцов

Содержимое флакона с концентратом раствора для образцов добавить к 480 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать.

В случае дробного использования набора отобрать из флакона необходимое количество концентрата раствора для образцов и развести дистиллированной водой в соотношении 1:24 (1 часть концентрата на 24 части дистиллированной воды). При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Приготовленный рабочий раствор для разведения образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

7.6. Приготовление рабочего раствора конъюгата

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента,

10

D-1654

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор ТМБ		Промысловый раствор	
	Конъюгат, концентрат, мл	РРК, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	0,1	1,0	0,05	1,0	2,0	до 50
2	0,2	2,0	0,10	2,0	4,0	до 100
3	0,3	3,0	0,15	3,0	6,0	до 150
4	0,4	4,0	0,20	4,0	8,0	до 200
5	0,5	5,0	0,25	5,0	10,0	до 250
6	0,6	6,0	0,30	6,0	12,0	до 300
7	0,7	7,0	0,35	7,0	14,0	до 350
8	0,8	8,0	0,40	8,0	16,0	до 400
9	0,9	9,0	0,45	9,0	18,0	до 450
10	1,0	10,0	0,50	10,0	20,0	до 500
11	1,1	11,0	0,55	11,0	22,0	до 550
12	1,2	12,0	0,60	12,0	24,0	до 600

Используя чистые наконечники, внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата и соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

Рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре от 18 до 25°C в течение 3 ч после приготовления.

D-1654

11

7.7. Приготовление рабочего раствора тетраметилбензида

тетраметилбензида

В соответствии с числом используемых стрипов (см таблицу) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество субстратного буферного раствора и добавить соответствующее количество концентрата тетраметилбензида, тщательно перемешать.

Рабочий раствор тетраметилбензида можно хранить при комнатной температуре в течение 3 ч после приготовления в защищенном от света месте.

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Побуду, 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, прожечь 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.8. 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⁺).

12

D-1654

В остальные лунки внести по 100 мкл подготавливаемых исследуемых образцов.

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

7.9. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (см п. 7.6).

Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.10. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

7.11. 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. 7.4), 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 удалять, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

Внимание! Промывку при помощи автоматического промывателя рекомендуется про-

водить в режиме с переполнением («Overflow») с 5-ю циклами промывки и внесением в лунки по 600–700 мкл промывочного раствора.

7.12. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидаина (см п. 7.7). Планшет поместить в защищенное от света место и выдерживать в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C .

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

7.13. Внести во все лунки 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.

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитывать средние значения оптической плотности (ОП) в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср.} К⁻).

Результаты исследований учитывают только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,20;
- значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом не менее 1,0.

9.2. Для оценки результатов анализа вычислить критическое значение оптической плотности (ОП_{крит.}) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{ср.}} \cdot K + 0,2$$

9.3. Результаты анализа считают **положительным**, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом равно или превышает ОП_{крит.} (ОП_{обр.} ≥ ОП_{крит.}), где ОП_{обр.} – оптическая плотность исследуемого образца.

9.4. Результаты анализа считают **отрицательным**, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом ниже ОП_{крит.} (ОП_{обр.} < ОП_{крит.}).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Набор реагентов Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности (12 мес). Допускается хранение набора при температуре до 25°С не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

D-1654

15

Гранспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°С не более 10 сут.

10.2. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипсы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- положительный и отрицательный контрольные образцы можно 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 твинном, раствор для образцов и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- концентрат коньюгата, концентрат тетраметилбензидина, раствор для разведения коньюгата после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- рабочий раствор коньюгата и рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить при температуре от 18 до 25°С не более 3 часов;

16

D-1654

— Промывочный раствор и рабочий раствор для образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

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

Запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

По вопросам, касающимся качества набора «Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ»

по адресу:
630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vbovtk@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, содержащиеся в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

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

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации антигена аденовируса, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного производителя-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, ус-

ловий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силой.

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 материала 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 (утилизироваться) в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обраще-

нию с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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 рабочим 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, оборудованных следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов во время проведения ИФА);

НИКОГДА не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и рабочего раствора ТМБ;

— перед отбором ТМБ из флакона необходимо протирать конус pipетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение pipеток конъюгатом может привести к контаминации всего со-держимого флаконов с СБР и ТМБ;

— 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 правдивых 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 пониженно чувствительности и специфичности анализа.

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

D-1654

21

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

4. Диагностическая значимость полученных результатов

Значительная роль в развитии острых диарей принадлежит аденовирусам 40 и 41 серотипов. Они были идентифицированы в 1975 году с помощью электронной микроскопии в образцах фекалий младенцев и детей, страдающих острой кишечной инфекцией (ОКИ). Из-за тропизма к желудочно-кишечному тракту эти два серотипа названы «кишечными» аденовирусами. Доля аденовирусной инфекции в структуре ОКИ составляет от 2 до 38%.

Основной клинической формой ОКИ аденовирусной этиологии является острый гастроэнтерит. Рвота, лихорадка и жидкий стул — наиболее частые клинические проявления аденовирусного гастроэнтерита. При поражении кишечными аденовирусами брыжеечных лимфатических узлов возникает мезаденит, который по своей клинической картине напоминает острую абдоминальную патологию — перитонит или острый аппендицит. Значительное увеличение брыжеечных лимфоузлов может привести к кишечной непроходимости.

22

D-1654

Источником инфекции являются больные с острой или латентной аденовирусной инфекцией, чаще поражаются дети в возрасте от 1 года до 7 лет. Инфекция передается воздушно-капельным и фекально-оральным способом. Регистрируется во все сезоны года с пиком выявления как моно-, так и в составе микст-инфекций в осенний период. Аденовирус выделяется из организма больного с фекалиями во внешнюю среду до 1,5 месяцев.

После перенесенной инфекции формируется типоспецифический гуморальный иммунитет, связанный с синтезом сывороточных иммуноглобулинов класса М, А и G и секреторных IgA. Иммунитет не длительный, сохраняется в течение 8–12 месяцев после заболевания.

Лабораторная диагностика инфекции основана на определении вируса, его антигенов, вирусспецифической ДНК в копромацерияле больных с помощью электронно-микроскопии, иммуноферментного анализа, цепной полимерной реакции.

Отсутствие специфической профилактики, легкость инфицирования создают предпосылки для роста заболеваемости аденовирусной инфекцией. Своевременная этиологическая диагностика инфекции способствует быстрому купированию заболевания, выбору адекватной терапии, эффективному проведению профилактических мероприятий.

D-1654

23

5. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов

«Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ»

*Использовать только после тщательного
ознакомления с инструкцией!*

Внести: по 100 мкл К⁺, К⁻;

по 100 мкл анализируемых образцов.

Внести: по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.

Инкубировать: 30 мин, 37°С.

Промыть: промывочным раствором,

400 мкл (600–700 мкл в режиме переполнения), 5 раз.

Внести: по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.

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.

24

D-1654

6. 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) 227-75-40.

24.03.16.

D-1654

25

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТЬ»

Международные сертификаты
ISO 9001 и ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G, TT;
ВИЧ-инфекция; ИППП; ТОРСН-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; опухольные 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

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
норовирусов геногрупп I и II

Норовирус-антиген – ИФА – Бест

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 07.11.2014
Приказом Росздравнадзора № 7482

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1656

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Норовирус-антиген – ИФА – БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления антигена норовируса генотипов I и II методом твердофазного иммуноферментного анализа в фекалиях больных острыми гастроэнтеритами и контактных лиц.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контроль, или 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроль.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе. В лунках планшета иммобилизованы специфические антигена к антигенам разных генотипов вируса. Во время первой инкубации при добавлении в лунки планшета исследуемого образца и биотинилированных моноклональных антител к норовирусу происходит связывание антител, иммобилизованных на внутренней поверхности лунки, и биотинилированных антител с антигенами норовируса. После промывки во время второй инкубации вносят конъюгат стрептавидин-пероксидазы, который связывается с биотинилированными моноклональными антителами к норовирусу, иммобилизованными в ходе первой инкубации.

Комплекс «антиген–биотинилированное антитело–конъюгат» выявляют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы–перекиси водорода и хромогена–тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации антигена норовируса в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилучночных стриптов) с иммобилизованными моноклональными антителами к антигену норовируса, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K⁺) – буферный раствор, содержащий рекомбинантный антиген норовируса человека, готовый для использования – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (K⁻) – буферный раствор, не содержащий антиген норовируса человека, готовый для использования – 1 фл., 2,5 мл;
- конъюгат №1, концентрат (биотинилированные моноклональные антитела к норовирусу) – 1 фл., 1,5 мл;
- конъюгат №2, концентрат (стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена) – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения конъюгата №1 (РРК №1) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата №2 (РРК №2) – 1 фл., 13 мл;

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевой буферный раствор с твином (ФСБ-Тх25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор для образцов (РО), концентрат – 1 фл., 20 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- пипетками для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагента – 3 шт.;
- наконечниками для пипеток на 5–200 мкл – 24 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность.

Набор должен выявлять антиген норовируса в реакции иммуноферментного анализа в СОП+ (СОП+ НВ-антиген (рег. № 05-2-472), аттестованный ОБТК АО «Вектор-Бест») и положительном контрольном образце (K^+); и не выявлять в отрицательном контрольном образце (K^-).

Титр антигена норовируса в СОП+ должен быть не менее 1:128.

Среднее значение оптической плотности отрицательного контрольного образца (ОП_{ср.} K^-) не должно превышать 0,2; значение положительного контрольного образца (ОП K^+) должно быть не ниже 1,0.

Диагностическая чувствительность выявления норовирусов I и II генотипы: клинические

D-1656

5

испытания, проведенные на 132 положительных образцах фекалий, показали 100% чувствительность (интервал 98–100%).

Диагностическая специфичность выявления норовирусов I и II генотипы: клинические испытания, проведенные на 131 отрицательном образце фекалий, показали 100% специфичность (интервал 98–100%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

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 инфекционными 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 методических указаниях МУ-287-113 «Методические указания по дезин-

6

D-1656

фекции, простерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки.

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 (N_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, простерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в дунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ C$;
- холодильный бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл (погрешность не более 5 %);
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл (погрешность не более 5 %);
- промыватель для планшетов автоматический или ручной;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- пробирки вместимостью 1,5 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Образцы фекалий человека

Для выявления антигена норовируса в фекалиях предварительно приготовить экстракт 20%-ной суспензии фекалий на рабочем растворе для образцов (см. п. 7.5.). Образцы фекалий собрать в стерильные флаконы (пробирки) с пробой вместимостью 10 мл. Фекалии в количестве 1 г ($\frac{1}{4}$ флакона) встряхнуть с 5,0 мл рабочего раствора для образцов до получения однородной взвеси, центрифугировать при 3000 об/мин в течение 30 мин. Исследуют надосадочную жидкость. Для выявления АГ норовируса можно использовать как свежеприготовленные образцы, так и хранившиеся при температуре от 2 до 8°С в течение 24 часов, либо замороженный при минус 20°С в течение не более 3 месяцев.

Полученные экстракты допускается хранить до анализа не более 24 ч при температуре от 2 до 8°С или до 3 мес при температуре минус 20°С и ниже. При необходимости многократного исследования, экстракты следует разделить на несколько порций, чтобы избежать повторного замораживания.

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

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов; остальные стрипы снять с рамки и немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.3. Положительный и отрицательный контрольные образцы (К+ и К-) даны в рабочем разведении и не требуют дополнительного разведения.

7.4. Приготовление промывочного раствора

Содержимое флакона с концентратом ФСБ-Т добавить к 672 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать.

В случае дробного использования набора отобрать из флакона необходимое количество концентрата ФСБ-Т и развести дистиллированной водой в соотношении 1:25 (1 часть концентрата на 25 частей дистиллированной воды).

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

Приготовленный промышленный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

7.5. Приготовление рабочего раствора

Для образцов

Содержимое флакона с концентратом раствора для образцов добавить к 480 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать.

В случае дробного использования набора отобрать из флакона необходимое количество концентрата раствора для образцов и развести дистиллированной водой в соотношении 1:24 (1 часть концентрата на 24 части дистиллированной воды).

При вынадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

Приготовленный рабочий раствор для разведения образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 сут.

7.6. Приготовление рабочего раствора коньюгата № 1

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу) в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагентов, входящую в состав набора, используя чистые наконечники, внести необходимое количество раствора для разведения коньюгата № 1 и соответстви-

ющее количество концентрата коньюгата № 1, тщательно перемешать.

Рабочий раствор коньюгата № 1 можно хранить при температуре от 18 до 25°С в течение 6 ч после приготовления.

7.7. Приготовление рабочего раствора коньюгата № 2

коньюгата № 2

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу) в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагентов, входящую в состав набора, используя чистые наконечники, внести необходимое количество раствора для разведения коньюгата № 2 и соответствующее количество концентрата коньюгата № 2, тщательно перемешать.

Рабочий раствор коньюгата № 2 можно хранить при температуре от 18 до 25°С в течение 6 ч после приготовления.

7.8. Подготовка раствора тетраметилбензида

Раствор ТМБ готов к использованию.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов), отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество раствора ТМБ.

Остатки раствора тетраметилбензида из флакона или ванночки утилизировать *(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).*

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата №1		Рабочий раствор конъюгата №2		Раствор ТМБ, мл		Промывочный раствор	
	Конъюгат №1, концентрат, мл	РРК №1, мл	Конъюгат №2, концентрат, мл	РРК №2, мл	ФСБ-Тх25, концентрат, мл	Дистил. вода, мл		
1	0,1	1,0	0,1	1,0	1,0	2,0	до 50	
2	0,2	2,0	0,2	2,0	2,0	4,0	до 100	
3	0,3	3,0	0,3	3,0	3,0	6,0	до 150	
4	0,4	4,0	0,4	4,0	4,0	8,0	до 200	
5	0,5	5,0	0,5	5,0	5,0	10,0	до 250	
6	0,6	6,0	0,6	6,0	6,0	12,0	до 300	
7	0,7	7,0	0,7	7,0	7,0	14,0	до 350	
8	0,8	8,0	0,8	8,0	8,0	16,0	до 400	
9	0,9	9,0	0,9	9,0	9,0	18,0	до 450	
10	1,0	10,0	1,0	10,0	10,0	20,0	до 500	
11	1,1	11,0	1,1	11,0	11,0	22,0	до 550	
12	1,2	12,0	1,2	12,0	12,0	24,0	до 600	

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

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

В остальные лунки внести по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов.

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

7.10. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата № 1 (см п. 7.6).

Для внесения рабочего раствора конъюгата №1 использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при температуре 37±1°С.

7.12. 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. 7.4), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку внести 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.

Внимание! Промывку при помощи автоматического промывателя рекомендуется про-

водить в режиме с переполюсовкой («Overflow») с 5-ю циклами промывки и внесением в лунки по 600–700 мкл промывочного раствора.

7.13. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата № 2 (см п. 7.7).

Для внесения рабочего раствора конъюгата №2 использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

7.15. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть 5 раз, так как описано в п. 7.12.

7.16. Во все лунки внести по 100 мкл раствора тетраметилбензидаина (см п. 7.8). Планшет поместить в защищенное от света место и выдерживать в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C .

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

7.17. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме:

D-1656

15

основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм.

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать значения оптической плотности (ОП) в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср. К⁻}) и значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом (ОП К⁺).

Результаты исследований учитывают только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,20;

– значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом не менее 1,0.

9.2. Для оценки результатов анализа вычислить критическое значение оптической плотности (ОП_{крит.}) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{ср. К}^-} + 0,2$$

9.3. Результаты анализа считают положительным, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом равно или превышает ОП_{крит.} (ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}).

9.4. Результаты анализа считают отрицательным, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом ниже ОП_{крит.} (ОП_{обр.} < ОП_{крит.}).

16

D-1656

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ 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.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипты можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- положительно и отрицательно заряженные стрипты можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твинном, концентрат раствора для образцов и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- концентрат конъюгата № 1, концентрат конъюгата № 2; раствор тетраметилбензидина, раствор для

разведения конъюгата № 1 и раствор для разведения конъюгата № 2 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;

– рабочий раствор конъюгата № 1 и рабочий раствор конъюгата № 2 можно хранить при температуре от 18 до 25°С не более 6 часов;

– промысловый раствор и рабочий раствор для образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

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

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональ-

ные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «Норовирус-антиген – ИФА – БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-Бест»

по адресу:
630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vrbobtk@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, содержащиеся в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

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

D-1656

19

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.

Для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации антигена норовируса, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного производителя-изготовителя).

1. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать 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-эпиде-

20

D-1656

миологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

2. Обеспечение получения правильных результатов анализа

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

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими препаратами, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;
- 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;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец, такая лунка бракуется.

D-1656

21

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.
- 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.
- Для предотвращения засорения иглы промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполняйте процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

3. Оценка результата анализа по коэффициенту позитивности

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

Для расчета коэффициента позитивности образцов использовать следующую формулу:

$$\text{КП}_{\text{обр.}} = \frac{\text{ОП}_{\text{обр.}}}{\text{ОП}_{\text{крит.}}}$$

22

D-1656

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

Результат анализа **отрицательный**, если $KП_{обр.} < 1$.

Расчет $KП$ целесообразно проводить для оценки концентрации антигена норовируса в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации антигена норовируса в динамике.

4. Диагностическая значимость полученных результатов

Норовирусная инфекция — острое кишечное заболевание с фекально-оральным и воздушно-капельным путями передачи, вызванное РНК-содержащими норовирусами. По нуклеотидному составу генома норовирусы разделяются на 5 генотипов: GI, GII, GIII, GIV и GV. Болезнетворные для человека вирусы относятся к генотипам I, II и IV. В структуре норовирусной инфекции доминирующая роль принадлежит норовирусам второй генотипы, которые вызывают 80–90% случаев данного заболевания.

Норовирусы поражают население всех возрастных групп. Выпшки норовирусной инфекции регистрируются среди детей школьного возраста, взрослых и пожилых людей. При спорадической заболеваемости наиболее часто поражаются дети в возрасте до 5-ти лет и пожилые люди.

В структуре ОКИ вирусной этиологии норовирусная инфекция занимает второе место после ротавирусной. Пик заболеваемости приходится на осенне-зимний период. Заболевание крайне заразно: минимальная инфицирующая доза — всего 10–100 вирусных частиц на 1 мл.

Инкубационный период составляет в среднем 12–48 часов. Клиническая картина складывается из симптомов острого гастроэнтерита: тошноты, сильной рвоты, диареи. Заболевание длится, как правило, 2–6 дней; у некоторых лиц оно может протекать бессимптомно.

Выделение вируса из организма максимумом с 1-го по 3-й день болезни и продолжается после исчезновения клинических симптомов заболевания в течение 2–8 недель. У пожилых людей и больных с ослабленным иммунитетом период выделение вируса во внешнюю среду может быть дольше (до 6 месяцев).

Иммунитет к норовирусам нестойкий, поэтому нередко случаются рецидивы и повторные выпшки заболевания.

Лабораторная диагностика инфекции основана на определении антигена норовируса в копроматерiale больных с помощью иммуноферментного анализа и вирусспецифической РНК методом ПЦР.













**5. Краткая схема проведения ИФА
для набора реагентов**

«Норовирус – антиген – ИФА – Бест»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** по 100 мкл K⁺, K⁻, анализируемых образцов.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №1.
- Инкубировать:** 60 мин, 37°С.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №2.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°С.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин при 18–25°С в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

6. 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) 227-75-40.

Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса М
к возбудителям иерсиниозов

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 28.08.2013
Приказом Росздравнадзора № 4415-Пр/13

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-3206

Иерсиния – IgM – ИФА – БЕЕСТ

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор «Иерсиния-IgM-ИФА-БЕЕСТ» предназначен для выявления иммуноглобулинов класса М к патогенным иерсиниям (*Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis*) в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Набор реагентов «Иерсиния-IgM-ИФА-БЕЕСТ» представляет собой набор реагентов, основой которого является смесь рекомбинантных антигенов иерсиний, сорбированных на поверхности лунок разборного полистиролового планшета.

Основным свойством набора является способность выявлять в сыворотке/плазме крови человека иммуноглобулины класса М к *Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis* за счёт их взаимодействия с иммобилизованными антигенами (АГ). АГ представляют собой рекомбинантные белки внешней мембраны иерсиний (YOPs). Данные АГ высокоспецифичны

для *Yersinia*, не обнаружены ни у каких других бактерий и характерны только для штаммов *Yersinia*, патогенных для человека. Образование комплекса антиген-антитело выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидаина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих комплексы «антиген-антитело». Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. После измерения ОП в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит}$ результат для каждого анализируемого образца оценивается как положительный или отрицательный.

2.2. Состав набора:

- планшет разборный с иммобилизованными антигенами иерсиний – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (К⁺), инаktivированный – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (К⁻), инаktivированный – 1 фл., 0,5 мл;

4

D-3206

3.2. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса М к возбудителям иерсиниозов должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-439), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест», включающей образцы, не содержащие иммуноглобулины класса М к возбудителям иерсиниозов: **специфичность** по IgM к возбудителю иерсиний – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (ГОСТ Р 51609-2000).

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- * работать в резиновых перчатках;
- * не пипетировать растворы ртом;
- * все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113-00 от 29.10.98.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной

6

D-3206

- конъюгат (антитела к IgM человека, меченные пероксидазой хрена) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидаина (раствор ТМБ) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнками для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса М к возбудителям иерсиниозов должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-439), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест», включающей образцы, содержащие иммуноглобулины класса М к возбудителям иерсиниозов: **чувствительность** по IgM к возбудителю иерсиний – 100%.

D-3206

5

длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;

- термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;
- термощейкер, поддерживающий температуру (37±1) °С, интенсивность перемешивания 400–800 об/мин;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2–8) °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (*погрешность не более 5%*);
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (*погрешность не более 5%*);
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

D-3206

7

- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113-00.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8)°С не более 5 суток, либо при температуре минус (20±4)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин в течение 10–15 минут.
- Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

8

D-3206

и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.

- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- 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 ТМБ), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
- Посуду (ванночки), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабаты-

10

D-3206

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25)°С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник при температуре (2–8)°С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через край лунок,

D-3206

9

вать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

- В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду (*ванночки*) для раствора ТМБ сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- 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 (МУ-231-113-00 от 29.10.98).
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. Промывочный раствор.

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением до полного растворения осадка.

D-3206

11

Таблица расхода реагентов

		Количество используемых стрипов												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
		Промывочный раствор												
ФСБ-Тх25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24		
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600		
		Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат (концентрат), мкл	α*	2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α		
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0		
		Раствор ТМБ												
Раствор ТМБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0		

* α = ▲▲▲ мкл (значение α указано в инструкции и в паспорте на данную серию наборов).

вить соответствующее количество РК, тщательно перемешать пипетированием.

Хранение: конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

7.2.3. Раствор ТМБ.

Внимание! Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ.

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с раствором ТМБ.

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ (см. таблицу). Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).

Хранение: при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Проведение анализа.

7.3.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные та-

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Тх25 (см. таблицу) и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до 700 мл.

Хранение: при температуре (2–8) °С до 5 суток.

7.2.2. Растворы конъюгата.

Внимание! Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

7.2.2.1. Приготовить концентрированный раствор конъюгата путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в 1,0 мл РНР.

Хранение: концентрированный раствор конъюгата – до 3 месяцев при (2–8) °С или до 12 месяцев при минус (20±4) °С. Допускается 3-кратное замораживание концентрированного раствора конъюгата.

Внимание! Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!

7.2.2.2. Тщательно взболтать содержимое флакона РК. Затем в ванночку для реагентов отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрированного раствора конъюгата, доба-

ким образом стрипы хранить при температуре (2–8) °С до конца срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 7.2.2.1).

7.3.2. Во все лунки стрипов внести по 90 мкл РРС. В одну лунку внести 10 мкл K⁺, в 2 другие лунки – по 10 мкл K⁻. Во все остальные лунки стрипов внести по 10 мкл исследуемых образцов. При этом цвет раствора в лунках изменится на синий.

Внесение сывороток должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

Лунки закрыть плёнкой и инкубировать при (37±1) °С в термощейкере при 500 об/мин 30 минут.

За 5 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.2.2).

7.3.3. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки 5 раз промывочным раствором и тщательно удалить влагу.

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл рабочего промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок

после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.

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

Внимание! Для внесения раствора конъюгата в рабочем разведении использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Лунки заклеймить плёнкой и инкубировать при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 30 минут.

7.3.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть 5 раз промывочным раствором, удалить влагу как описано выше.

7.3.6. Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ (п. 7.2.3).

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, прилагаемые к набору.

16

D-3206

Вычислить критическое значение ОП ($\text{ОП}_{\text{крит}}$) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}}(\text{K}^-) + 0,3,$$

где $\text{ОП}_{\text{ср}}(\text{K}^-)$ – среднее арифметическое значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Если $\text{ОП}_{\text{ср}}(\text{K}^-)$ имеет отрицательное значение, считать её равной нулю.

Для интерпретации результатов исследования сывороток использовать коэффициент позитивности (КП):

$$\text{КП} = \text{ОП}_{\text{иссл. сыв.}} / \text{ОП}_{\text{крит.}}$$

При $\text{КП} < 1,0$ результат расценивать как отрицательный.

$\text{КП} \geq 1,0$ – результат положительный.

18

D-3206

Стрипы поместить в защищённое от света место при температуре $(18-25)^\circ\text{C}$ на 25 минут.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2–3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,2 ($\text{ОП}_{\text{ср}}\text{K}^- \leq 0,2$);
- значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,6 ($\text{ОП}\text{K}^+ \geq 0,6$);

D-3206

17

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток. Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$. Замораживание 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 можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности набора;
- контрольные образцы, ФСБ-Т×25, РРС, РК, РПР, раствор ТМБ и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности набора;
- концентрированный раствор конъюгата можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в течение 3 месяцев с момента приготовления или при температуре минус $(20 \pm 4)^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности набора;

D-3206

19

- промывочный раствор можно хранить при температуре (2–8) °С до 5 суток с момента приготовления.

По вопросам, касающимся качества набора «Иерсиния-IgM-ИФА-БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу: 630117, г. Новосибирск-117, а/я 492, тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44; E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-68-23.

20

D-3206

- 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 счёт 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.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Набор «Иерсиния – IgM – ИФА – БЕСТ» рекомендуется для:

- диагностики иерсиниозов;
- наблюдения в процессе лечения и последующей диспансеризации;
- обследование контактных лиц.

Согласно литературным данным антитела (АТ) класса G к *Yersinia* встречаются у 10–40%

22

D-3206

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться обученным персоналом;
- При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов следует проводить по МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»;
- Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007;
- 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.
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации;

D-3206

21

населения, АТ класса А – до 11%, АТ класса М – до 2%. Эти цифры отражают распространенность иерсиниозов среди взрослого населения.

Для правильной интерпретации результатов, разграничения острой, недавно перенесённой, давно перенесённой инфекции, прогнозирования исхода заболевания (*выздоровление или хронизация процесса*) и последующего выбора тактики лечения важно включать в исследование определение IgA, IgG и IgM.

После перенесённой инфекции IgG могут циркулировать в крови несколько месяцев или лет.

Иммуноглобулины классов А и М при благоприятном исходе иерсиниозов исчезают из сыворотки крови в течении 2–6 месяцев. Сохранение в крови IgA и/или IgM более 6-ти месяцев свидетельствует о хроническом течении заболевания и персистенции возбудителя.

Увеличение или уменьшение КП в динамике свидетельствует о нарастании или снижении, соответственно, титра АТ.

Достоверным считать изменение КП в 2 раза и более.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменения концентрации

D-3206

23

иммуноглобулинов класса G к иерсиниям в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

Рекомендуется исследовать парные сыворотки с интервалом 3–4 недели.

При интерпретации результатов можно руководствоваться приведённой ниже таблицей:

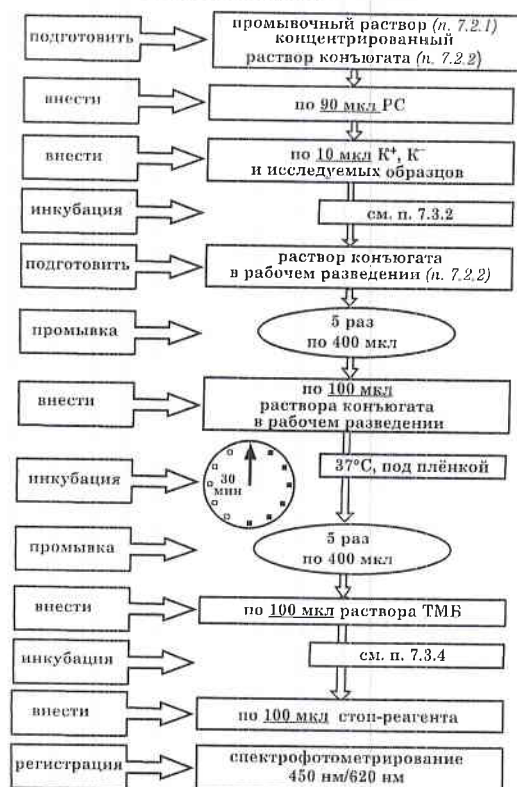
IgG	IgM	IgA	Интерпретация
+	–	–	перенесённая в прошлом инфекция
+	+, но КП снижается в течении 3–6 мес.	+, но КП снижается в течении 3–6 мес.	недавно перенесённая инфекция с исходом в выздоровление
+ или –	– или +, но КП снижается в динамике	+ более 6 мес.	персистенция возбудителя. Артриты, узловая эритема, миокардиты и др. осложнения инфекционно-аллергического характера
+ или –	+ более 6 мес.	+ или –	хронические илеиты, тифлиты, колиты и др.

При обследовании больного с подозрением на иерсиниозную инфекцию представляется

важным тесное сотрудничество между лечащим врачом и врачом-лаборантом, особенно если получены слабоположительные результаты при тестировании.

Окончательный диагноз формулируется на основании клинико-анамнестических данных, эпиданамнеза и результатов комплекса лабораторных исследований.

Схема анализа D-3206



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
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

26.02.16