



Instruction for use

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
IgG, IgM, IgA АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ
GIARDIA LAMBLIA В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF IgG, IgM, IgA ANTIBODIES TO GIARDIA LAMBLIA
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

anti-Giardia Lamblia-EIA



НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K171**

ТУ № 9398-171-18619450-2012

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2012/13633 от 29 июня 2012 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инаktivированы.



На 96, 192 или 480 определений



Для *in vitro* диагностики

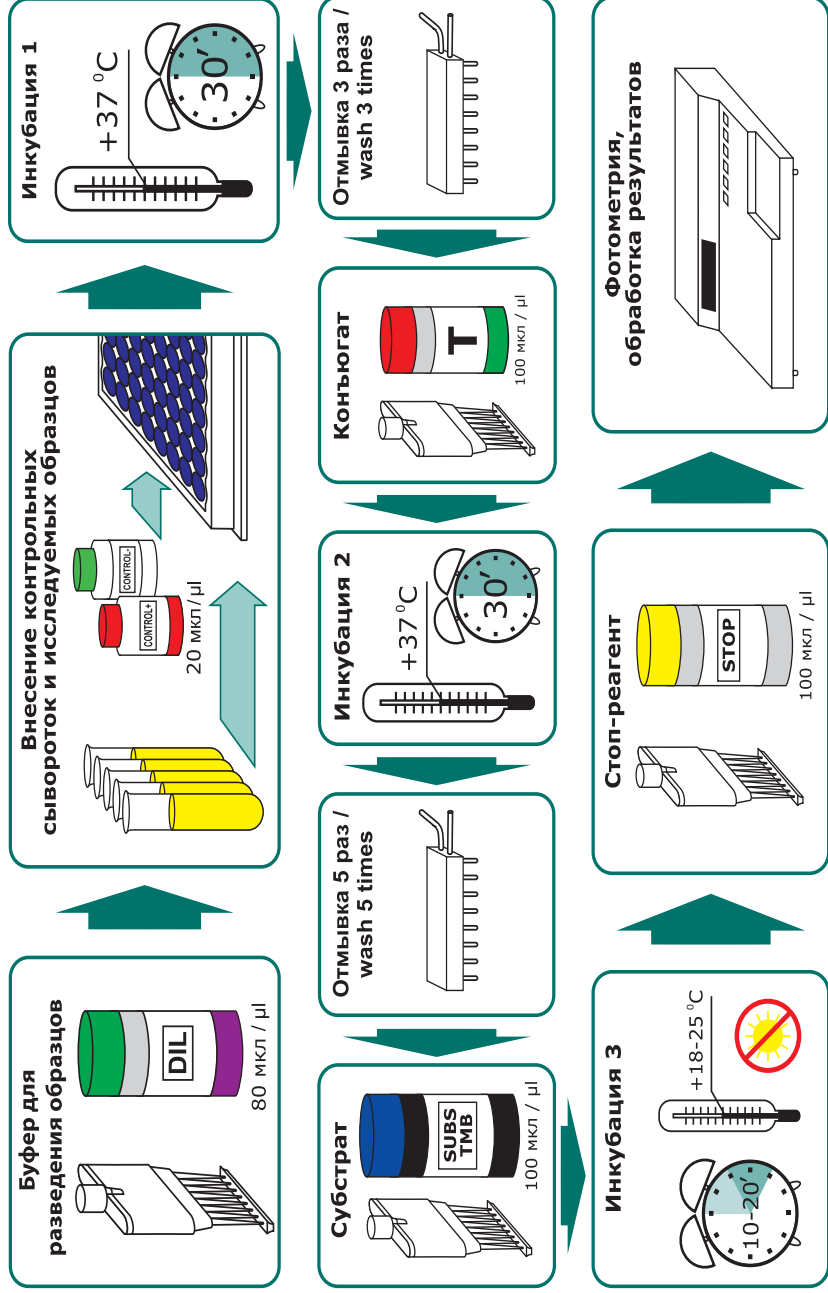


ООО "ХЕМА"
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48
+7(495) 510-57-07
redkin@xema-medica.com
www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K171

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	3
5. СОСТАВ НАБОРА	4
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	4
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	5
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	6
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	7
11. ЛИТЕРАТУРА	7

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG, IgM, IgA АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ GIARDIA LAMBLIA В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» предназначен для качественного определения концентрации IgG, IgM, IgA антител к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. *Giardia lamblia* (intestinalis) вызывает гиардиоз (лямблиоз) – паразитарную инвазию, которая протекает в виде латентного паразитоносительства и манифестных формах (нарушение функций кишечника). Возбудитель лямблиоза распространен повсеместно, особенно в регионах с низкой санитарной культурой. Основным механизмом заражения *Giardia lamblia* является фекально-оральный путь. Заболевание распространено среди всех возрастных групп, однако, основной контингент составляют дети дошкольного возраста.

Вегетативные формы паразита существуют только на поверхности слизистой оболочки верхнего отдела тонкой кишки. Это приводит к тому, что лямблии механически блокируют слизистую оболочку и нарушают пристеночное переваривание и двигательную активность тонкой кишки. Лямблии вызывают ухудшение всасывания жиров, углеводов, витаминов С и В12. Стоит заметить, что из-за лабильности к действию желчных кислот *Giardia lamblia* не может непосредственно вызывать заболевания печени и холецистохолангиты, но обуславливает вторичную бактериальную инфекцию (вследствие рефлкторной дискинезии желчных путей).

Симптомами лямблиоза могут быть диарея, усталость, отек, апатия, потеря массы тела, сниженный аппетит, бледность, мышечные судороги. В желудочно-кишечном тракте лямблиоз проявляется главным образом в виде энтероколита с катаральными проявлениями.

Диагностику инфекции, вызванной *Giardia lamblia*, проводят микроскопическим или культуральным методом, а также, путем определения специфических антител в сыворотке крови.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение антител к антигенам лямблий основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антигены *Giardia lamblia*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – смеси антивидовых (специфических к антителам классов IgG, IgM, IgA) моноклональных антител с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию специфических антител к антигенам лямблий. Индекс позитивности (ИП, %) антител к антигенам лямблий в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность и чувствительность. Чувствительность Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» оценивали с помощью панели охарактеризованных сывороток, которая состоит из 42 образцов сывороток крови человека, содержащих антитела к *Giardia lamblia*. В Наборе реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» все сыворотки были определены как положительные. При исследовании 158 отрицательных на антитела к *Giardia lamblia* сывороток показатель специфичности составил более 98%.

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания антител к антигенам *Giardia lamblia* в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» не превышает 8.0%.

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» (Intra-assay):

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %	CV2, %
1	32	3.4	2.9	2.8
2	32	9.1	4.8	5.0

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на одной серии Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» в течение трех дней (Inter-assay):

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %
1	8	3.1	3.9
2	8	9.0	6.2

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть 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 Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

Национальный стандарт Российской Федерации. Лаборатории медицинские. Требования безопасности Medical Laboratories, REQUIEREMENTS FOR SAFETY Гост Р52905-2007 (ИСО 15190:2003).

4.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P171Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	CN171Z CP171Z	CONTROL- CONTROL+	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием антител к антигенам лямблий; готовы к использованию (0.5 мл и 0.3 мл соответственно)	2	шт	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T171Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	SP171Z	DIL	Буфер для разведения образцов ; готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) ; готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент ; готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9	K171I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»	1	шт	-
10	K171Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»	1	шт	-

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ,
НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки одноразовые резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре (+18...+25 °С) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с Планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы тщательно заклеить Бумагой для заклеивания планшета, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого Набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить Бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Буфер для разведения образцов, Конъюгат, Раствор субстрата ТМБ, Стоп-реагент – после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Контрольные сыворотки после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным Концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.7. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для Контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	Внесите во все лунки Планшета по 80 мкл Буфера для разведения образцов.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 20 мкл Контрольных сывороток. В остальные лунки внесите в дубликатах по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение Контрольных сывороток и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	ВНИМАНИЕ! При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте Планшет Бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте Планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните Планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл Конъюгата.
8	Заклейте Планшет Бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл Раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ). Внесение Раствора субстрата ТМБ в лунки необходимо произвести в течение 2–3 минут. Инкубируйте Планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл Стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения Стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
13	Рассчитайте содержание антител к антигенам лямблий в исследуемых образцах. Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $ОП (CN171Z)_{ср} = (ОП1 (CN171Z) + ОП2 (CN171Z) + ОП3 (CN171Z)) / 3$; Результаты анализа считать достоверными, если: – ОП Положительного контроля не ниже 0.3 оптических единиц (OE); – ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 OE во всех лунках; 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.20 Cut off = ОП (CN171Z)_{ср} + 0.20 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off ИП = ОПобразца / Cut off

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

10.2. Интерпретация результатов:

- при $ИП > 1.1$ образец положительный;

- при $ИП < 0.9$ образец отрицательный;

- при значении ИП, лежащем в промежутке от 0,91 до 1,09 – результат в пограничной зоне (+/-). Такие сыворотки рекомендуется исследовать повторно. Если повторный полученный результат будет неопределенным, то следует провести тестирование сыворотки, полученной через 2-4 недели. В случае получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Возбудители протозойных инфекций человека // Медицинская микробиология/ Гл. ред. В.И. Покровский, О.К.Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 928-940.
2. В.Ф.Лобода, А.О.Луцук, А.Б.Кабакова та ін. Роль лямблій в патології органів травлення у дітей // Інфекційні хвороби. - 1997. - № 2. - С.28-30.
3. Шабалов Н.П., Староверов Ю.И. Лямблиоз у детей // Новый медицинский журнал. - 1998.- №3.- С. 22-26.

По вопросам, касающимся качества Набора **«антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»**,
следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,

тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqs@xema.ru

интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими Наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств лабораторной
диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

