

ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов
класса G к антигенам
Ureaplasma urealyticum

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 23.10.2009
Приказом Росздравнадзора № 8458-Пр/09

Ureaplasma urealyticum – IgG –
ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-2254

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G (IgG) к антигенам *Ureaplasma urealyticum* в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор реагентов рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, происходит их связывание с иммобилизованными на поверхности лунок планшета рекомбинантными антигенами *Ureaplasma urealyticum*. Не связавшийся материал удаляют отмывкой.

На второй стадии антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена (*конъюгат*), свя-

зываются с комплексом «антиген-антитело». Не связавшийся конъюгат удаляют отмывкой.

Во время третьей инкубации с раствором тетраметилбензидина 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 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum*.

После измерения ОП раствора в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит}$ анализируемые образцы оцениваются как положительные, сомнительные или отрицательные.

2.2. Состав набора.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Ureaplasma urealyticum* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+), инактивированный – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (K^-), инактивированный – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат – 1 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл.
- разводящий буфер для сывороток (РБС) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидаина (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 пипеток на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-107 от 29.05.08), включающей образцы сывороток, содержащие специфические IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*: **чувствительность** по иммуноглобулинам класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-107 от 29.05.08), включающей образцы сывороток, не содержащие IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*: **специфичность** по иммуноглобулинам класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

При подготовке к проведению анализа 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.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета 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 ± 1) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки резиновые хирургические;

- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при (2–8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3) °С, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО 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 хранить при (2–8) °С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Раствор ТМБ готов для использования. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.

- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, 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, раствор ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабаты-

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, контактирующих 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 (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- 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.

Таблица расхода реагентов

		Количество используемых стрипов												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Промывочный раствор														
ФСБ-Т×25, 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		

$\alpha = \blacktriangle \blacktriangle$ МКЛ

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (см. таблицу) и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

Хранение: при температуре (2–8) °С 72 часа.

7.2.2. Контрольные образцы.

Контрольные образцы (K^+ и K^-) готовы к использованию.

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

7.2.3. Растворы конъюгата.

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

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

Хранение: концентрированный раствор конъюгата – при температуре (2–8) °С до 1 месяца.

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

Перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо аккуратно перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флаконов с концентратом конъюгата и с РК.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК и аккуратно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

7.2.4. Раствор ТМБ.

Внимание! Раствор ТМБ готов к применению.

Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ.

В пластиковую ванночку отобрать 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*).

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

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 7.2.3).

Внимание! Концентрированный раствор конъюгата должен быть приготовлен, как минимум, за 15 минут до постановки ИФА и выдержан при температуре (18–25)°С.

7.3.2. Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть один раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по 400 мкл промывочного раствора. По истечении 5 минут раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

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

7.3.3. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл РБС**. В одну лунку внести **20 мкл K⁺**, в две другие лунки по **20 мкл K⁻**, в остальные лунки – по **20 мкл исследуемых образцов**, получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться аккуратным

перемешиванием (*пипетирование не менее 4 раз*). Не допускать вспенивания и касания наконечником дна и стенок лунки.

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

За 5 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении.

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

Внимание! *Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.*

7.3.5. Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

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

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

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

7.3.6. Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

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

Стрипы поместить в защищённое от света место при температуре (18–25) °С на **30 минут**.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку 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 620–650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

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

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,25 ($ОП_{ср} K^- \leq 0,25$);

– значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,6 ($ОП K^+ \geq 0,60$).

Вычислить критическое значение ОП ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср} K^- + 0,25,$$

где $ОП_{ср} K^-$ – среднее значение ОП для K^- .

Исследуемый образец оценить как:

– отрицательный, т.е. не содержащий IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,05$;

– положительный, т.е. содержащий IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит} + 0,05$;

– сомнительный, если $ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$.

9.2. Интерпретация результатов.

ОП сыворотки	Результат	Титр IgG
$ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,05$	отрицательный	–
$ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$	сомнительный	–
$ОП_{крит} + 0,05 \leq ОП_{обр} \leq 1,5 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
$1,5 \times ОП_{крит} < ОП_{обр} \leq 2 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
$2 \times ОП_{крит} < ОП_{обр} \leq 3 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
$3 \times ОП_{крит} < ОП_{обр} \leq 4 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
$ОП_{обр} > 4 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

Пациентам с сомнительными и положительными результатами рекомендуется дополнительное обследование (выявление возбудителя, обследование парных сывороток). Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, п. Кольцово, Новосибирской обл, Новосибирского района, а/я 121,

тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;

тел./факс: (383), 332-94-47, 332-94-44.;

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117246, Москва, Научный проезд, д.14А, тел.: (495) 120-60-95, 120-60-96.

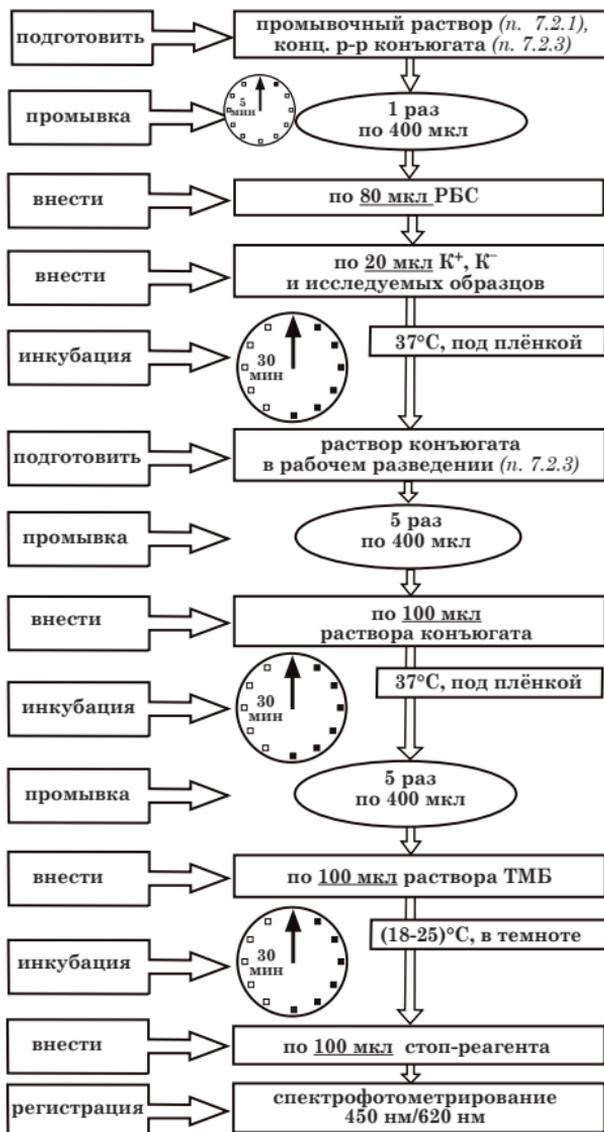
ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- 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;
- 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.

Схема анализа D-2254



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		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-81-44.

20.04.16

**АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Международный сертификат
ISO 13485

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов
класса А к антигенам
Ureaplasma urealyticum

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 23.10.2009

Приказом Росздравнадзора № 8459-Пр/09

Ureaplasma urealyticum – IgA –
ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-2258

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов класса А (IgA) к антигенам *Ureaplasma urealyticum* в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор реагентов рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах иммуноглобулинов класса А к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, происходит их связывание с иммобилизованными на поверхности лунок планшета рекомбинантными антигенами *Ureaplasma urealyticum*. Не связавшийся материал удаляют отмывкой.

На второй стадии антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена (*конъюгат*), свя-

зываются с комплексом «антиген-антитело». Не связавшийся конъюгат удаляют отмывкой.

Во время третьей инкубации с раствором тетраметилбензидина 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 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса А к антигенам *Ureaplasma urealyticum*.

После измерения ОП раствора в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит}$ анализируемые образцы оцениваются как положительные, сомнительные или отрицательные.

2.2. Состав набора:

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Ureaplasma urealyticum* – 1 шт.;

- положительный контрольный образец (K^+), инактивированный – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (K^-), инактивированный – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат – 1 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл.
- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидина (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 пипеток на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса А к антигенам *Ureaplasma urealyticum* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-202 от 27.03.08), включающей образцы сывороток, содержащие специфические IgA к антигенам *Ureaplasma urealyticum*: **чувствительность**

по иммуноглобулинам класса А к антигенам *Ureaplasma urealyticum* – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса А к антигенам *Ureaplasma urealyticum* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-202 от 27.03.08), включающей образцы сывороток, не содержащие IgА к антигенам *Ureaplasma urealyticum*: **специфичность** по иммуноглобулинам класса А к антигенам *Ureaplasma urealyticum* – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

При подготовке к проведению анализа 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.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения ОП растворов в лунках планшета 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 ± 1) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся не более 5 суток при (2–8) °С, либо при минус (20±3) °С, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО 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 хранить при (2–8) °С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Раствор ТМБ готов для использования. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, 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, раствор ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать 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, контактирующих 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 (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

- 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.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (*см. таблицу*) и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объема или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

Хранение: при температуре (2–8) °С до 72 часов.

7.2.2. Контрольные образцы.

Контрольные образцы (K^+ и K^-) готовы к использованию.

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

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, 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

$\alpha = \blacktriangle \blacktriangle$

7.2.3. Растворы конъюгата.

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

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

Хранение: концентрированный раствор конъюгата при температуре (2–8) °С до 1 месяца.

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

Перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо аккуратно перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флаконов с концентратом конъюгата и с РК.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК и аккуратно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

7.2.4. Раствор ТМБ.

Внимание! Раствор ТМБ готов к применению.

Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ.

В пластиковую ванночку отобрать 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*).

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

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 7.2.3).

Внимание! Концентрированный раствор конъюгата должен быть приготовлен, как минимум, за 15 минут до постановки ИФА и выдержан при температуре (18–25) °С.

7.3.2. Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть один раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по 400 мкл промывочного раствора. По истечении 5 минут

раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

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.

7.3.3. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл РС**. В одну лунку внести **20 мкл K^+** , в две другие лунки по **20 мкл K^-** , в остальные лунки – по **20 мкл исследуемых образцов**, получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться аккуратным перемешиванием (*пипетирование не менее 4 раз*). Не допускать вспенивания и касания наконечником дна и стенок лунки.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37 ± 1) °C **30 минут**.

За 5 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении.

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

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (**400 мкл**

промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.

7.3.5. Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении.**

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

Заклеить лунки плёнкой и инкубировать при температуре (37 ± 1) °C **30 минут.**

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

7.3.6. Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ.**

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

Стрипы поместить в защищённое от света место при температуре $(18-25)$ °C на **30 минут.**

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку 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 620–650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

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

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,25 ($ОП_{ср}K^- \leq 0,25$);

– значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,6 ($ОПК^+ \geq 0,60$).

Вычислить критическое значение ОП ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}(K^-) + 0,25,$$

где $ОП_{ср}K^-$ – среднее значение ОП для отрицательного контрольного образца.

Исследуемый образец оценить как:

– **отрицательный**, т.е. не содержащий IgA к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,05$;

– **положительный**, т.е. содержащий IgA к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит} + 0,05$;

– **сомнительный**, если $ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$.

Пациентам с сомнительными и положительными результатами рекомендуется дополнительное обследование (*выявление возбудителя, обследование парных сывороток*). Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121;

тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;

тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

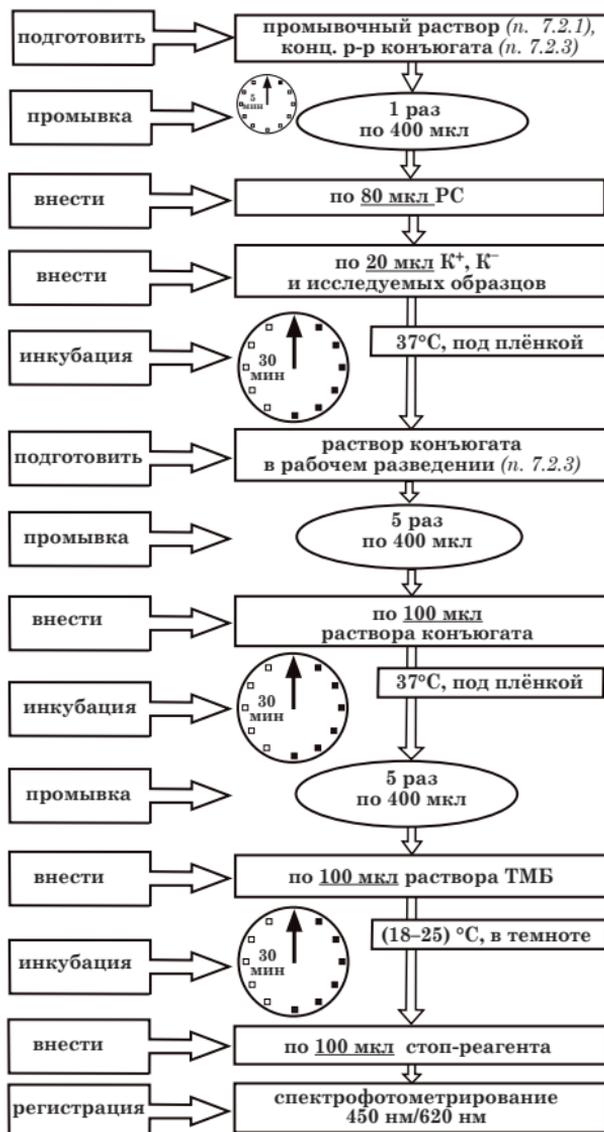
и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117246, Москва, Научный проезд, д. 14А, тел. (495) 120-60-95; 120-60-96.

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;
- 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.

Схема анализа D-2258



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		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-81-44.

20.04.16

**АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Международный сертификат
ISO 13485

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

ВЕКТОР



Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ

D-2752

Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар
в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 06.12.2013

Приказом Росздравнадзора № 7029-Пр/13



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Выявление иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар может быть использовано для диагностики токсокароза.

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ, в ходе которого при взаимодействии исследуемых образцов сывороток (плазмы) крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами токсокар происходит связывание специфических антител и образование комплекса «антиген–антитело» на поверхности лунок. После добавления в лунки планшета конъюгата моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена происходит включение ферментной метки в иммунный комплекс.

Комплекс «антиген–антитело–конъюгат» выявляют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к антигенам токсокар в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилучных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами токсокар, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса G к антигенам токсокар, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K^-) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса G к антигенам токсокар, готовый для использования – 1 флакон (2,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);

- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – 1 флакон (10 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (12 мл);
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночкой для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки 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. Возможен перекрест иммунологических реакций при заболеваниях описторхозом, трихинеллезом и эхинококкозом, что может быть связано как с совместной инвазией, так и со взаимодействием антител с гетерологичным антигеном за счет иммунологических перекрестов между антигенами.

3.2. Специфическая активность.

Чувствительность выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар – соответствие результатов качественного выявления

набором иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-266), 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 класса G к антигенам токсокар – соответствие результатов качественного выявления набором иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-266), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с отрицательными сыворотками меньше величины диагностического значения оптической плотности.

3.3. Титр стандартного образца предприятия СОП⁺ (рег. № 05-2-174) должен быть не менее 1:800.

3.4. Диагностическая чувствительность: клинические исследования, проведенные в двух независимых учреждениях на 61 положительных образцах, взятых у больных с подтвержденным токсокарозом, показали 93% чувствительность (интервал 86–98%, с доверительной вероятностью 90%).

3.5. Диагностическая специфичность: клинические исследования, проведенные в двух независимых учреждениях на 63 отрицательных образцах, взятых у доноров, отобранных случайным образом, и больных с иной нозологией (атопический дерматит, бронхиальная астма, описторхоз, эозинофилия неясной этиологии, аскаридоз) показали 100% специфичность (интервал 95–100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаний

МУ-287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционного, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы 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.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы вместимостью 10–15 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.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови допускается хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут при отсутствии микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 6 мес.

Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора и образцы сывороток (плазмы) крови при температуре от 18 до 25°C в течение времени не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимые для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 ч после установки. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

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

В таблице 1 приведен расход реагентов в зависимости от числа используемых стрипов.

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

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

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Положительный и отрицательный контрольные образцы после первого вскрытия фла-

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

7.5. Предварительное разведение исследуемых образцов

В лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток (РПРС) и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать. При разведении сыворотки красный цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

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

7.6. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор конъюгата утилизировать **(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)**.

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

Таблица 1

Расход компонентов набора реагентов

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

В таблице 1 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента и поместить в защищенное от света место.

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

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

В таблице 1 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидаина.

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внесение образцов.

В лунку А-1 внести 100 мкл положительно-го контрольного образца (K^+). В лунки В-1 и С-1 внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-).

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток (PPC) и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови (см п. 7.5), перемешать пипетированием. Для повышения достоверности результатов, исследуемые образцы рекомендуется анализировать в дублях, используя для каждого образца по две лунки.

Раствор для разведения сывороток перед употреблением встряхнуть!

7.10. Определение титра исследуемых образцов.

Для определения титра в выявленных положительных образцах в лунки горизонтального ряда А внести по 180 мкл PPC и по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сывороток (плазмы) крови (см п. 7.5), перемешать пипетированием. В лунки рядов В-Н внести по 100 мкл PPC. Каждый образец титровать, перенося по 100 мкл раствора из лунок предыдущего ряда в лунки последующего от А до Н, тщательно перемешивая пипетированием. После раститровки из каждой лунки последнего ряда Н удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором по 100 мкл раствора, оставляя в лунках по 100 мкл. Таким образом, в вертикальных рядах получают последовательные 2-кратные разведения исследуемых образцов в интервале от 1:100 до 1:12800.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин.

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

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

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

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

7.15. По окончании инкубации промыть планшет как описано в п. 7.12.

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

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

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

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: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху).

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать средние арифметические значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом, для каждой пары лунок, содержащих образцы исследуемых сывороток (плазмы) и последовательные разведения исследуемых сывороток (плазмы) крови.

9.2. На основании полученных данных вычислить диагностическое значение оптической плотности (ОП_д) по формуле:

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

где ОП_{ср.} (K⁻) – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом, ед. опт. плотн.

9.3. Оценка результатов:

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом должно быть не более 0,25 ед. опт. плотн.;

– значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 0,80 ед. опт. плотн.

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

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

Результаты анализа считают **отрицательным**, если $\text{ОП}_{\text{обр.}} < \text{ОП}_d$,

где: ОП_{обр.} – среднее значение оптической плотности анализируемого образца в лунке, ед. опт. плотн.

9.6. Титр анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови – наибольшее разведение анализируемого образца, при котором его оптическая плотность больше либо равна величине диагностического значения оптической плотности ($\text{ОП}_{\text{обр.}} \geq \text{ОП}_d$).

Диагноз токсокароз может быть поставлен у больных с титром антител к антигенам токсокар 1:800 и выше и с эозинофилией более 10%, и при наличии характерных клинических признаков.

При титрах антител 1:100–1:400 и уровне эозинофилии до 10% можно предположить глазной токсокароз или токсокароносительство, которое не обязательно приводит к развитию заболевания. Исследование сывороток людей с подозрением на токсокароносительство следует повторить через 3 мес.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C 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°C. 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 стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;

- положительный и отрицательный контрольные образцы, конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для предварительного разведения сывороток, раствор для разведения сывороток и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

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

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

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

**По вопросам, касающимся качества набора
«Токсокара-IgG-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: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

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

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgG к антигенам токсокар в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

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 классифи-

цируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

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

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

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

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

4. Оценка анализа по коэффициенту позитивности

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с исследуемым образцом относительно ОП_д (п. 9.2).

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

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{450\text{ обр.}}}{ОП_{д}},$$

где ОП_{450 обр.} – 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:

$$КП_{обр.} = 3,2 \times \frac{ОП_{405\text{ обр.}}}{ОП_{д}},$$

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

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

Ориентировочное соответствие коэффициента позитивности и титра приведено в таблице 2.

Результат анализа **отрицательный**, если $ОП_{обр.} < ОП_{д}$ ($КП_{обр.} < 1$).

Результат анализа **слабоположительный**, если титр образца 1:100 ÷ 1:400 ($1 \leq КП_{обр.} < 4,4$).

Результат анализа **положительный**, если титр образца 1:800 и выше ($КП_{обр.} \geq 4,4$).

5. Диагностическая значимость полученных результатов

Выявление иммуноглобулинов класса G к антигенам токсокар может быть использовано для:

– диагностики токсокароза у лиц с характерным комплексом симптомов (лимфаденопатия, гепатомегалия, бронхит и бронхиальная астма неясного генеза, уртикарная сыпь) на фоне эозинофилии крови и лейкомоидной реакции эозинофильного типа, характерным эпиданамнезом (геофагия; виды деятельности, предполагающие контакт с землей);

– дифференциальной диагностики токсокароза от других гельминтозов и заболеваний, сопровождающихся выраженной эозинофилией;

Таблица 2

**Ориентировочное соответствие
коэффициента позитивности (КП)
и титра исследуемой сыворотки**

Значение КП	Титр сыворотки	Интерпретация результата
1–1,4	1:100	слабоположительный
1,4–2,5	1:200	слабоположительный
2,5–4,4	1:400	слабоположительный
4,4–6,5	1:800	положительный
6,5–9,0	1:1600	положительный
9,0–11,0	1:3200	положительный
11,0–11,8	1:6400	положительный
11,8–12,5	1:12800	положительный

– оценки эффективности лечения токсокароза;

– эпидемиологических исследований.

Интерпретацию результатов анализа проводит лечащий врач с учетом клинических признаков, эпиданамнеза и данных о содержании эозинофилов в крови обследуемых лиц.

**6. Краткая схема проведения ИФА
для набора реагентов
«Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ»**

*Использовать только после внимательного
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°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора тетраме-
тилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная
длина волны 620–655 нм.

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	YYYY-MM-DD YYYY-MM	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.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

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

www.vector-best.ru

ВЕКТОР



Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ

D-3452

Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса G
к антигенам *Ascaris lumbricoides*
в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 12.04.2013

Приказом Росздравнадзора № 1390-Пр/13



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Выявление иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* может быть использовано для диагностики аскаридоза.

1.3. Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контрольные образцы, допускается 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides* представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ, в ходе которого при взаимодействии исследуемых образцов сывороток крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами аскарид происходит связывание специфических антител и образование комплекса «антиген-антитело» на поверхности лунок.

После добавления в лунки планшета конъюгата происходит включение ферментной метки в иммунный комплекс. Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляют цветной реакцией с использованием субстрата

пероксидазы – перекиси водорода и хромогена –тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides* в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами *Ascaris lumbricoides*, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides*, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K^-) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides*, готовый для использования – 1 флакон (2,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – 1 флакон (10 мл);

- раствор для разведения сывороток (PPC) – 1 флакон (12 мл);
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночкой для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки 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. Возможен перекрест иммунологических реакций при заболеваниях описторхозом, токсокарозом, трихинеллезом и эхинококкозом, что может быть связано как с совместной инвазией, так и с взаимодействием антител с гетерологичным антигеном за счет иммунологических перекрестов между антигенами.

3.2. Специфическая активность:

чувствительность выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* – соответствие результатов качественного выявления набором иммуноглобулинов класса G

к антигенам *Ascaris lumbricoides* требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-216), аттестованной ОБТК АО «Вектор-бест» – составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с положительными сыворотками №1–№8 больше либо равны величине диагностического значения оптической плотности ($ОП_{№1-№8} \geq ОП_{д}$);

специфичность выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* – соответствие результатов качественного выявления набором иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-216), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с отрицательными сыворотками №9–№16 меньше либо равны величине диагностического значения оптической плотности, умноженного на 0,85 ($ОП_{№9-№16} \leq 0,85 \times ОП_{д}$).

3.3. Титр стандартного образца предприятия СОП+ (рег. № 05-2-215) должен быть не менее 1:800.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 февраля 1991 г. и в методических указаниях МУ-287-113-00 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998 г).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционного, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны

быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

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 620–650 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;

- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 10–15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес.

Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить

центрифугованием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°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 не менее 1 ч.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимые для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 ч после установки. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

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

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

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

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

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Положительный и отрицательный контрольные образцы после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.

7.5. Предварительное разведение исследуемых образцов

В лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток (РПРС) и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать. При разведении сыворотки красный цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат.

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

Таблица расхода компонентов набора реагентов

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

7.6. Подготовка конъюгата

Необходимое количество конъюгата отобрать в стеклянный флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор конъюгата утилизировать (**не сливать во флакон с исходным конъюгатом!**).

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.

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

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидаина

Раствор ТМБ готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ отобрать в стеклянный флакон или в пластиковую ванночку для реагента поместить в защищенное от света место.

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

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

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

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внесение образцов

В лунку А-1 внести 100 мкл положительно-го контрольного образца (K^+). В лунки В-1 и С-1 внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-).

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток (PPC) и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых

образцов сыворотки (плазмы) крови (см п. 7.5.), перемешать пипетированием.

Раствор для разведения сывороток перед употреблением встряхнуть!

7.10. Определение титра исследуемых образцов

Внесение исследуемых сывороток для определения титра произвести в семи последовательных двукратных разведениях в интервале от 1:100 до 1:12800. В лунки горизонтального ряда А внести по 180 мкл РРС и по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови (см п. 7.5.). В лунки рядов В–Н внести по 100 мкл РРС. Каждый образец титровать, перенося по 100 мкл раствора из лунок предыдущего ряда в лунки последующего от А до Н, тщательно перемешивая пипетированием. После раститровки из каждой лунки последнего ряда Н удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором по 100 мкл раствора, оставляя в лунках по 100 мкл.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин.

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

7.12. По окончании инкубации снять лишнюю пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором

и промыть, добавляя во все лунки по 400 мкл промывочного раствора (см п. 7.3.). Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

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

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

7.15. По окончании инкубации промыть планшет как описано в п. 7.12.

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

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

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

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: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху).

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать средние арифметические значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср} K^-$); для каждой пары лунок, содержащих образцы исследуемых сывороток (плазмы) и последовательные разведения исследуемых сывороток (плазмы) крови.

9.2. На основании полученных данных вычислить диагностическое значение оптической плотности ($ОП_d$) по формуле:

$$ОП_d = ОП_{ср} (K^-) + 0,25,$$

где: $ОП_{ср} (K^-)$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом, ед. опт. плотн.

9.3. Оценка результатов:

– значение оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом должно быть не менее 0,80 ед. опт. плотн.;

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом должно быть не более 0,25 ед. опт. плотн.

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

9.5. Результат анализа считают **положительным**, если $ОП_{обр} \geq ОП_{д}$.

Результаты анализа считают **отрицательным**, если $ОП_{обр} \leq 0,85 \times ОП_{д}$.

Результаты анализа считают **сомнительными**, если $ОП_{д} > ОП_{обр} > 0,85 \times ОП_{д}$,

где: $ОП_{обр}$ – оптическая плотность анализируемого образца в лунке, ед. опт. плотн.

При получении сомнительного результата рекомендуется повторно, через 2–4 недели, проанализировать вновь взятый образец сыворотки (плазмы) крови человека. Если оптическая плотность второго анализа снова будет в интервале от $0,85 \times ОП_{д}$ до $ОП_{д}$ – результат следует считать **отрицательным**.

9.6. Титр анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови – наибольшее разведение анализируемого образца, при котором его оптическая плотность больше либо равна величине диагностического значения оптической плотности ($ОП_{обр} \geq ОП_{д}$).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C 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°C. 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 стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;
- положительный и отрицательный контрольные образцы, конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для предварительного разведения сывороток, раствор для разведения сывороток и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;

– промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

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

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

**По вопросам, касающимся качества набора
«Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ»,**

следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ»

по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-20-60, 227-75-43,
тел./факс (383), 363-13-46, 363-35-55.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

**ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ**

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

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

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides* в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7. настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». 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:

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости

в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

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

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

3. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

4. Оценка анализа по коэффициенту позитивности

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно ОП_д (п. 9.2.).

В случае необходимости оценки результатов по коэффициенту позитивности провести повторное измерение ОП в режиме: основной фильтр – 405 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение без использования референс-фильтра.

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих ОП₄₅₀ ≤ 3,5 о.е., использовать формулу:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{450\text{ обр.}}}{ОП_{450\text{ д}}},$$

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

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих ОП₄₅₀ > 3,5 о.е., использовать формулу:

$$КП_{обр.} = 3,2 \times \frac{ОП_{405\text{ обр.}}}{ОП_{450\text{ д}}},$$

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

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

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

Результат анализа **сомнительный**, если соответствующее ему значение $KП_{обр.}$ 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 IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides* в динамике в парных образцах сывороток.

5. Диагностическая значимость полученных результатов

Интерпретацию результатов ИФА анализа проводит лечащий врач с учетом клинических признаков и результата копрологии обследуемых лиц. Следует учитывать возможность перекреста иммунологических реакций при заболеваниях описторхозом, токсокарозом, трихинеллезом и эхинококкозом. Это может быть связано как с совместной инвазией, так и со взаимодействием антител с гетерологичным антигеном за счет иммунологических перекрестов между антигенами.

**6. Краткая схема проведения ИФА
для набора реагентов
«Аскарида-IgG-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
исследуемых сывороток.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора тетраме-
тилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная
длина волны 620–655 нм.

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	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-35-56.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

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

www.vector-best.ru

ВЕКТОР



Лямблия-антитела-ИФА-БЕСТ

D-3552

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 21.07.2011

приказом Росздравнадзора № 4449-Пр/11



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 встречающееся паразитарное заболевание тонкого кишечника человека, вызываемое *Ciardia lamblia* – представителем семейства *Protozoe*. Лямблии существуют в двух отдельных формах – цистах (статическая форма) и трофозоидах (пролиферативная форма).

1.3. Заражение человека происходит оральным путем, при попадании цист лямблий в желудочно-кишечный тракт. Источник инвазии – некипяченая питьевая вода, вода водоемов, немытые 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 обследование де-

тей с аллергическими симптомами, дерматитами, с 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 антигены 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 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 лямблий в анализируемом образце сыворотки.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами лямблий, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий IgA, IgM, IgG к антигенам лямблий, 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 лямблий, 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 при описторхозе, токсокарозе, эхинококкозе, трихинеллезе, аскаридозе не выявлены.

3.2. Специфическая активность

Чувствительность выявления иммуноглобулинов классов А, М, G к антигенам лямблий – со-

ответствие результатов выявления набором IgA, IgM, IgG к антигенам лямблий 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 лямблий – соответствие результатов выявления набором IgA, IgM, IgG к антигенам лямблий 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. Титр 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).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попа-

дания 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, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства 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.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на каче-

ство 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 , дioxлор, 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 одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости 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 гемолизованную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку, содержащую азид натрия.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток или при температуре минус 20°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°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-Т×25 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.

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, тщательно 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 концентрата 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.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во одновременно используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбензидаина		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

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

7.7. Приготовление рабочего раствора ТМБ

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

центрата 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 отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внесение контрольных образцов.

В лунку А-1 внести 100 мкл положительно-го контрольного образца (K^+). В лунки В-1 и С-1 внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-).

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 рекомендуется 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 антители 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 лунок 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, оставляя в лунках по 100 мкл.

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 рабочим буферным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого цикла промывки.* По окончании промывки остатки влаги из лунок 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 лунок и промыть планшет, как указано в п. 7.12.

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

Для внесения рабочего 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»)) осуществлять 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⁻).

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 $\text{ОП}_{\text{обр.}} \geq \text{ОП}_D$.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C 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°C 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°C 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°C в течение всего срока годности набора;
- положительный и отрицательный контрольные образцы можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- рабочий буферный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток;
- рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч;
- рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить при температуре от 18 до 25°C 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 неспецифических 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
«Лямблия-антитела-ИФА-БЕСТ»,
обращаться в АО «Вектор-Бест»**

по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46, 332-37-58,
тел./факс (383), 336-60-30, 332-67-52,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

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

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации иммуноглобулинов 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.

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

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7 настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». 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);
- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и рабочего раствора ТМБ;
- перед отбором ТМБ из флакона необходимо обрабатывать 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 шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

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

4. Оценка анализа по коэффициенту позитивности

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:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{450 \text{ обр.}}}{ОП_{д}},$$

где $ОП_{450 \text{ обр.}}$ – 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:

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

где $ОП_{405 \text{ обр.}}$ – ОП образца, полученная в двухволновом режиме **405 / 620–655** нм (или только с фильтром **405 нм**).

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 сумарных антител к антигенам лямблий 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 лямблий, относящиеся к различным классам иммуноглобулинов. Показано, что попадание антигенов лямблий 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 лямблий в сыворотке крови может свидетельствовать о наличии патологического процесса.

**6. Краткая схема проведения ИФА
для набора реагентов
«Лямблия-антитела-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°C.
- Промыть:** рабочим буферным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора
конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочим буферным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора
тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная
длина волны 620–655 нм.

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	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-35-56.

01.02.19.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

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

www.vector-best.ru

ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов
класса G к *Mycoplasma hominis*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 10.12.2014

Mycoplasma hominis – IgG –
ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-4352

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G (IgG) к антигену p120 *Mycoplasma hominis* в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор реагентов рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантного антигена. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах иммуноглобулинов класса G к *Mycoplasma hominis*, происходит их связывание с иммобилизованным на поверхности лунок планшета рекомбинантным антигеном p120 *Mycoplasma hominis*. Не связавшийся материал удаляют отмывкой.

На второй стадии антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена (*конъюгат*), свя-

зываются с комплексом «антиген-антитело». Не связавшийся конъюгат удаляют отмывкой.

Во время третьей инкубации с раствором тетраметилбензидина 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 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса G к *Mycoplasma hominis*.

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

2.2. Состав набора:

- планшет разборный с иммобилизованным рекомбинантным антигеном p120 *Mycoplasma hominis* – 1 шт.;

- положительный контрольный образец (K⁺), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса G к *Mycoplasma hominis* – прозрачная жидкость красного цвета – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (K⁻), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса G к *Mycoplasma hominis* – прозрачная жидкость светло-жёлтого цвета – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат, концентрат – антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена – прозрачная жидкость синего цвета – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения конъюгата (PK) – бесцветная слегка опалесцирующая жидкость — 1 фл., 13 мл;
- разводящий буфер для сывороток (PBC) – прозрачная жидкость красного цвета – 1 фл., 13 мл;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании – 1 фл., 28 мл;
- раствор ТМБ – прозрачная бесцветная или с желтоватым оттенком жидкость – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнкой 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 G к *Mycoplasma hominis* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-176), включающей образцы сывороток, содержащие специфические IgG к *Mycoplasma hominis*: **чувствительность** по иммуноглобулинам класса G к *Mycoplasma hominis* – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса G к *Mycoplasma hominis* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-176), включающей образцы сывороток, не содержащие IgG к *Mycoplasma hominis*: **специфичность** по иммуноглобулинам класса G к *Mycoplasma hominis* – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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 от 01.05.08 и МУ-287-113 от 30.12.98;

- * утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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 длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37 ± 1) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл;
- цилиндр вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

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.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО 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%.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при (2–8) °С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Раствор ТМБ готов для использования. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, 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*), *раствор ТМБ*, *стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать 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, контактирующих 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 (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- 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.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество

Таблица расхода реагентов

Количество используемых стрипов											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление промывочного раствора											
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	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 600
Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении											
Конъюгат (концентрат), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,2
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	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	12,0

ФСБ-Т×25 (см. таблицу) и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объема или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

Хранение: при температуре (2–8) °С до 72 часов.

7.2.2. Контрольные образцы.

Контрольные образцы (К⁺ и К⁻) готовы к использованию.

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

7.2.3. Раствор конъюгата в рабочем разведении.

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

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

Перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо аккуратно перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флаконов с концентратом конъюгата и с РК.

В пластиковую ванночку внести необходимое количество РК, добавить соответствующее

количество конъюгата (*см. таблицу*) и аккуратно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

7.2.4. Раствор ТМБ.

Внимание! Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор 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 цеффленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2–8) °С до конца срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), контрольные образцы (п. 7.2.2).

7.3.2. Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть один раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по 400 мкл промывочного раствора. По истечении 5 минут раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

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.*

7.3.3. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл РБС**. В одну лунку внести **20 мкл K^+** , в две другие лунки по **20 мкл K^-** , в остальные лунки – по **20 мкл исследуемых образцов**, получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться аккуратным перемешиванием (*пипетирование не менее 4 раз*). Не допускать вспенивания и касания наконечником дна и стенок лунки.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37 ± 1) °C **30 минут**.

За 5 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении.

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

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

7.3.5. Во все лунки планшета внести 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.

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

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

7.3.6. Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ.**

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и **одноразовые** наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы поместить в защищённое от света место при температуре (18–25) °С на **30 минут**.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением во все 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 620–650 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 отрицательным контрольным образцом не более 0,25 ($ОП_{ср}K^- \leq 0,25$).

– значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом не менее 0,6 ($ОП_{K^+} \geq 0,60$).

Вычислить **критическое значение оптической плотности** ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}(K^-) + 0,3,$$

где $ОП_{ср}(K^-)$ — среднее значение ОП для отрицательного контрольного образца.

Исследуемый образец оценить как:

– **отрицательный**, т.е. не содержащий IgG к *Mycoplasma hominis*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,05$;

– **положительный**, т.е. содержащий IgG к *Mycoplasma hominis*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит} + 0,05$;

– **сомнительный**, если $ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$.

9.2. Интерпретация результатов.

ОП образца	Результат	Титр IgG
от 0 до ($ОП_{крит} - 0,05$)	отрицательный	–
от ($ОП_{крит} - 0,05$) до ($ОП_{крит} + 0,05$)	сомнительный	–
от ($ОП_{крит} + 0,05$) до $2 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
от $2 \times ОП_{крит}$ до $4 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
от $4 \times ОП_{крит}$ до $8 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
от $8 \times ОП_{крит}$ до $11 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
более $11 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

Пациентам с сомнительными и положительными результатами рекомендуется дополнительное обследование (*выявление возбудителя, обследование парных сывороток*). Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С.

Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

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 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.

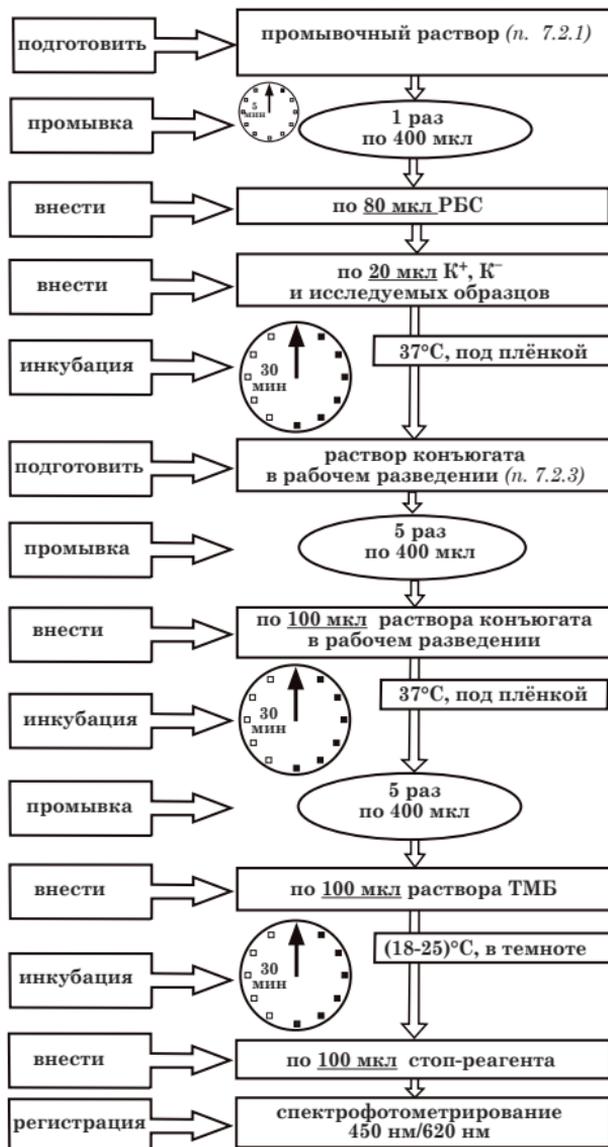
По вопросам, касающимся качества набора «Mycoplasma hominis-IgG-ИФА-БЕСТ», обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

*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*

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.

Схема анализа D-4352



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		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-81-44.

18.04.16

**АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Международный сертификат
ISO 13485

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов
класса А к *Mycoplasma hominis*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 10.12.14

Mycoplasma hominis – IgA –
ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-4358

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов класса А (IgA) к антигену р120 *Mycoplasma hominis* в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор реагентов рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантного антигена. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах иммуноглобулинов класса А к *Mycoplasma hominis*, происходит их связывание с иммобилизованным на поверхности лунок планшета рекомбинантным антигеном р120 *Mycoplasma hominis*. Не связавшийся материал удаляют отмывкой.

На второй стадии антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена (*конъюгат*), свя-

зываются с комплексом «антиген-антитело». Не связавшийся конъюгат удаляют отмывкой.

Во время третьей инкубации с раствором тетраметилбензидина 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 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса А к *Mycoplasma hominis*.

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

2.2. Состав набора:

- планшет разборный с иммобилизованным рекомбинантным антигеном p120 *Mycoplasma hominis* – 1 шт.;

- положительный контрольный образец (K^+), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса А к *Mycoplasma hominis* – прозрачная жидкость красного цвета – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (K^-), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса А к *Mycoplasma hominis* – прозрачная жидкость светло-жёлтого цвета – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат, концентрат – антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена – прозрачная жидкость синего цвета – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – бесцветная слегка опалесцирующая жидкость – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС) – прозрачная жидкость жёлто-красного цвета – 1 фл., 13 мл;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании – 1 фл., 28 мл;
- раствор ТМБ – прозрачная бесцветная или с желтоватым оттенком жидкость — 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнкой 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 А к *Mycoplasma hominis* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-178), включающей образцы сывороток, содержащие специфические IgА к *Mycoplasma hominis*: **чувствительность** по иммуноглобулинам класса А к *Mycoplasma hominis* – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса А к *Mycoplasma hominis* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-178), включающей образцы сывороток, не содержащие IgА к *Mycoplasma hominis*: **специфичность** по иммуноглобулинам класса А к *Mycoplasma hominis* – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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 от 01.05.08 и МУ-287-113 от 30.12.98;

- * утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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 длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37 ± 1) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл;
- цилиндр вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

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.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО 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%.

- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при (2–8) °С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Раствор ТМБ готов для использования. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, 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*), *раствор ТМБ*, *стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать 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, контактирующих 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 (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

- 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.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (*см. таблицу*) и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объема или содержимое 1 флакона – до **700 мл.**

Хранение: при температуре (2–8) °С до 72 часов.

7.2.2. Контрольные образцы.

Контрольные образцы (K^+ и K^-) готовы к использованию.

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

7.2.3. Раствор конъюгата в рабочем разведении.

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

Таблица расхода реагентов

Количество используемых стрипов												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Приготовление промывочного раствора												
ФСБ-Т×25, 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
Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат (концентрат), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
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

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

Перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо аккуратно перемешать, не допуская вспенивания, содержащее флаконов с концентратом конъюгата и с РК.

В пластиковую ванночку внести необходимое количество РК, добавить соответствующее количество конъюгата (см. таблицу) и аккуратно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

7.2.4. Раствор ТМБ.

Внимание! Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор 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 таким образом стрипы хранить при (2–8) °С до конца срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (*n.* 7.2.1), контрольные образцы (*n.* 7.2.2).

7.3.2. Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть один раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по 400 мкл промывочного раствора. По истечении 5 мин раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

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.*

7.3.3. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл РС**. В одну лунку внести **20 мкл K^+** , в две другие лунки по **20 мкл K^-** , в остальные лунки – по **20 мкл исследуемых образцов**, получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов

должно сопровождаться аккуратным перемешиванием (*пипетирование не менее 4 раз*). Не допускать вспенивания и касания наконечником дна и стенок лунки.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37 ± 1) °С **30 минут**.

За 5 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении.

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

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.

7.3.5. Во все лунки планшета внести 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.

Заклеить лунки плёнкой и инкубировать при температуре (37 ± 1) °С **30 минут**.

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

7.3.6. Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и **одноразовые** наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы поместить в защищённое от света место при температуре (18–25) °С на **30 минут**.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением во все 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 620–650 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 отрицательным контрольным образцом не более 0,25 ($ОП_{ср}K^- \leq 0,25$).

– значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом не менее 0,6 ($ОПК^+ \geq 0,60$).

Вычислить **критическое значение оптической плотности** ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}(K^-) + 0,3,$$

где $ОП_{ср}(K^-)$ — среднее значение ОП для отрицательного контрольного образца.

Исследуемый образец оценить как:

– **отрицательный**, т.е. не содержащий IgA к *Mycoplasma hominis*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,05$;

– **положительный**, т.е. содержащий IgA к *Mycoplasma hominis*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит} + 0,05$;

– **сомнительный**, если $ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

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 счёт 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 «Mycoplasma hominis-IgA-ИФА-БЕСТ», 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

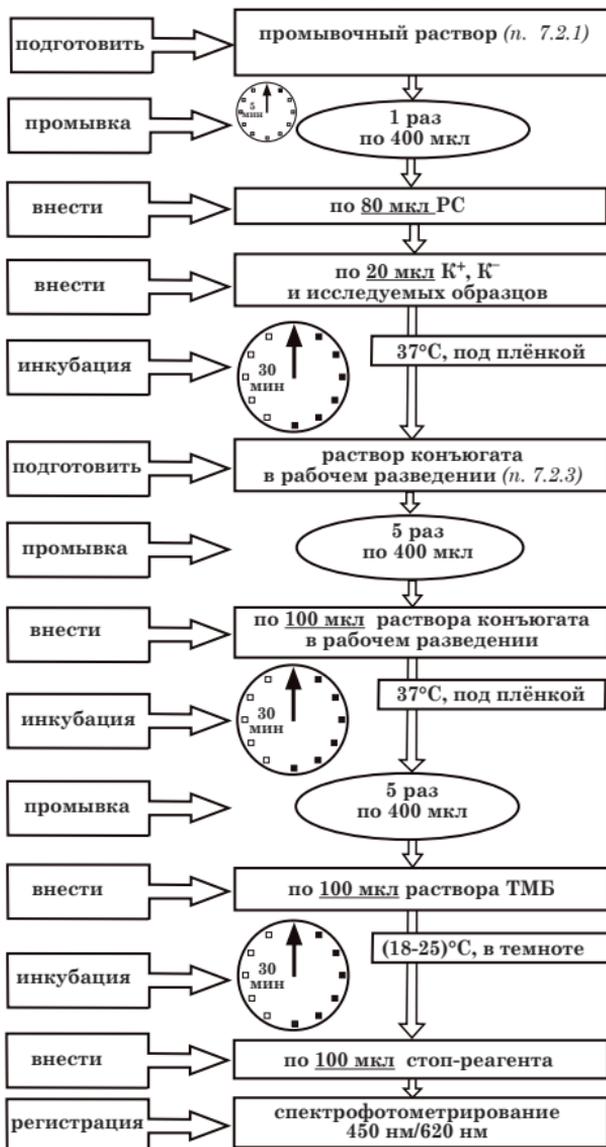
ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- 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.

Схема анализа D-4358



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		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-81-44.

18.04.16

**АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Международный сертификат
ISO 13485

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

ВЕКТОР



IgG общий-ИФА-БЕСТ

A-8662

Набор реагентов
для иммуноферментного определения
концентрации общего иммуноглобулина
класса G в сыворотке крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 14.08.2018



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации общего иммуноглобулина класса G в сыворотке крови «IgG общий-ИФА-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для определения концентрации общего иммуноглобулина класса G ($IgG_{\text{общ}}$) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного, 6 калибровочных и 1 контрольного образцов (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуно-ферментного анализа с применением моноклональных антител к IgG.

На первой стадии калибровочные образцы с известной концентрацией $IgG_{\text{общ}}$ и анализируемые образцы инкубируются в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (МКАТ) к гамма-цепям IgG. На второй стадии связавшийся в лунках IgG обрабатывают конъюгатом МКАТ к легким (лямбда и каппа) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой.

Образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные МКАТ – IgG – конъюгат» выявляют ферментативной реакцией с раствором тетраметилбензидина. Степень окрашивания пропорциональна концентрации $IgG_{общ}$ в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация $IgG_{общ}$ в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к гамма-цепям IgG человека, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества $IgG_{общ}$ – 0; 17,5; 35; 75; 150; 300 Ед/мл (0; 1,4; 2,8; 6; 12 и 24 мг/мл), аттестованные относительно WHO International Standard Immunoglobulins G, A and M, human serum, NIBSC 67/086; концентрации $IgG_{общ}$ в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольный образец на основе инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием $IgG_{общ}$, аттестованный относительно WHO International Standard Immunoglobulins G, A and

M, human serum, NIBSC 67/086; готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);

- конъюгат моноклональных антител к легким (лямбда и каппа) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- раствор для разведения сывороток (PPC), концентрат – 1 флакон (28 мл);
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор тетраметилбензидаина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл);
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток на 5–200 мкл – 16 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

Принадлежности:

- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. В наборе «IgG общий – ИФА – БЕСТ» используются моноклональные антитела, обладающие высокой специфичностью к гамма-цепям IgG. Перекрестного связывания с IgM, IgA, IgE или альбумином в физиологических концентрациях не наблюдалось.

3.2. «Хук»-эффект при использовании набора реагентов не зафиксирован. Оптическая плотность образцов сыворотки крови с концентрацией $IgG_{общ}$ до 1000 Ед/мл всегда превышала оптическую плотность калибровочного образца с максимальной концентрацией $IgG_{общ}$.

3.3. *Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации $IgG_{общ}$ в лунках, содержащих контрольный образец, не превышает 8%.

3.4. *Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчетной величины концентрации $IgG_{общ}$ при разведении калибровочных образцов, содержащих 300, 150, 75, 35 Ед/мл в 2 раза. Процент «линейности» составляет: 90–110 %.

3.5. *Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации $IgG_{общ}$ расчетному значению в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца с концентрацией $IgG_{общ}$ 35 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.6. *Чувствительность. Минимально определяемая концентрация $IgG_{общ}$, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца B_0 (с концентрацией $IgG_{общ}$ 0 Ед/мл) плюс 2σ (σ - среднее квадратичное отклонение

от среднего арифметического значения V_0) не превышает 2,5 Ед/мл (0,2 мг/мл).

3.7. Клиническая проверка. Концентрация $IgG_{\text{общ}}$, измеренная в сыворотке крови условно здоровых доноров находилась в диапазоне 37–200 Ед/мл (см. стр. 29).

3.8. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации $IgG_{\text{общ}}$, соответствующие нормальным для данного региона у обследуемого контингента людей.

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 инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических уч-

реждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Лабораторная 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,

* по ГОСТ Р 51352-2013.

спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. 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 реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 400–800 об/мин;
- микроцентрифуга, позволяющая центрифугировать при 1500–2000 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;

- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 48 часов, при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 месяцев. Повторное замораживание и размораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы следует выдерживать при температуре от 18 до 25°C не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 часа после установки. Оставшиеся стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Раствор готовится из концентрата фосфатно-солевого буферного раствора. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре 30–40°C до полного растворения осадка.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

7.4. Приготовление рабочего раствора для разведения сывороток

Приготовить за 30 мин до начала постановки анализа.

При выпадении осадка солей в концентрате РРС необходимо прогреть его при температуре 30–40°C до полного растворения осадка.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата раствора для разведения сывороток и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

Приготовленный рабочий раствор для разведения сывороток можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 3 сут.

7.5. Подготовка калибровочных образцов и контрольного образца

Калибровочные образцы и контрольный образец готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием флаконы встряхнуть или центрифугировать на микроцентрифуге так, чтобы капли

растворов со стенок и крышки опустились на дно. Затем содержимое флаконов тщательно перемешать на вортексе или пипетированием, избегая образования пены.

Калибровочные образцы и контрольный образец после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.6. Приготовление рабочего разведения анализируемых образцов сыворотки крови

Готовится в стеклянных заранее промаркированных флаконах за 5–10 мин до начала постановки анализа.

В чистый флакон с 10 мл рабочего раствора для разведения сывороток (см. п. 7.4) добавить 10 мкл исследуемой сыворотки и тщательно перемешать. Таким образом, рабочее разведение сыворотки составляет 1000 раз*.

Использовать в течение 30 мин после приготовления.

7.7. Подготовка конъюгата.

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

* См. также раздел «Дополнительная информация для потребителей», п. 2

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).

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

Конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.8. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс.

Раствор ТМБ плюс готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

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

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ плюс.

Раствор ТМБ плюс после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

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

7.9. Стоп-реагент готов к использованию.

После первого вскрытия стоп-реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе

Таблица 1

Кол-во используемых стрипов	Промывочный раствор		Рабочий раствор для разведения сывороток		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистил. вода, мл	РРС, концентрат, мл	Дистил. вода, мл		
2	4,0	до 100	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	24,0	до 600	12,0	12,0

при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.10. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток (см п. 7.4).

Внести в соответствующие лунки в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 20 мкл каждого калибровочного образца. В следующую пару лунок внести по 20 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести

в дублях по 20 мкл анализируемых образцов сыворотки крови в рабочем разведении (см п. 7.6), каждый раз меняя наконечник.

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

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на термостатируемом шейкере при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ и 700 об/мин.

7.12. По окончании инкубации снять липкую пленку и удалить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 350 мкл промывочного раствора. Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки планшета по 100 мкл конъюгата (см п. 7.7).

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

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на

термостатируемом шейкере при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 700 об/мин.

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

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ плюс (см п. 7.8) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре от 18 до 25°C .

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

7.17. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ плюс, по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только с фильтром 450 нм. Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации $IgG_{\text{общ}}$ в калибровочных образцах (Ед/мл или мг/мл).

9.3. Определить концентрацию $IgG_{\text{общ}}$ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих анализируемые образцы.

9.4. Если при проведении анализа использовали разведение сыворотки в 1000 раз (базовое разведение для данного набора), то найденное по графику количество $IgG_{\text{общ}}$ соответствует концентрации $IgG_{\text{общ}}$ в анализируемом образце в Ед/мл (мг/мл). Если использовали другое разведение образца, то найденное по графику количество $IgG_{\text{общ}}$ пересчитывают с учетом дополнительного разведения, также получая в результате концентрацию $IgG_{\text{общ}}$ в Ед/мл (мг/мл).

Если значение оптической плотности анализируемого образца превышает значение ОП для калибровочного образца 300 Ед/мл (24 мг/мл), то данный образец анализируют повторно после дополнительного разведения в 2 раза, полученный результат умножают на 2.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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 от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- калибровочные образцы, контрольный образец и конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, концентрат раствора для разведения

сывороток; раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;

- рабочий раствор для разведения сывороток можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 3 сут;
- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

10.5. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, рекомендуется также каждый раз определять концентрацию $IgG_{общ}$ в контрольном образце.

10.6. Для перевода результатов измерений концентрации общего иммуноглобулина класса G из Ед/мл в мг/мл следует использовать коэффициент пересчета 0,08 ($1 \text{ Ед/мл } IgG_{общ} = 0,08 \text{ мг/мл } IgG_{общ}$).

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

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

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 функциональные 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 «IgG общий-ИФА-БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ» по адресу:
630559, Новосибирская область,
Новосибирский р-н,
р.п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-20-60, 227-75-43,
тел./факс (383) 363-35-55.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации $IgG_{\text{общ}}$ в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. 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 влиять на ферментативную активность конъюгатов;
- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;
- рабочие поверхности столов, оборудования обрабатывайте 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);
- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;
- перед отбором ТМБ из флакона необходимо обрабатывать 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 с ТМБ;
- если допущена ошибка при внесении анализируемого образца, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

- Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

- Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.
- Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.
- Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.
- Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

2. Рекомендации по подготовке анализируемых образцов

Вместо одноступенчатого (п. 7.6.) допустимо проводить двухступенчатое разведение сывороток с использованием планшета для предварительного разведения исследуемых образцов. Для этого, в каждую лунку планшета для предварительного разведения внести по 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток. Далее в одну из лунок, например, А-1, добавить 10 мкл исследуемой сыворотки, сменить исполь-

зованный наконечник пипетки на новый и затем с его помощью тщательно перемешать содержимое лунки (5–6 круговых движений, во время которых следует 3–4 раза набрать и опорожнить наконечник), избегая образования пены. После этого из лунки отобрать 10 мкл, внести в соседнюю лунку, например, А-2, и таким же образом тщательно перемешать (для этой операции также желательно использовать новый чистый наконечник пипетки). В лунке А-2 получаем рабочее разведение сыворотки 1000 раз. Аналогично развести и другие исследуемые сыворотки (например, в лунках В-1 и В-2, С-1 и т.д.):

– 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток + 10 мкл исследуемого образца → предварительное разведение образца в 32 раза;

– 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток + 10 мкл образца после предварительного разведения → рабочее разведение образца в 1000 раз.

Внимание! *Точность приготовления разведений определяет качество постановки теста!*

При исследовании не сыворотки, а других биологических жидкостей, степень разведения исследуемых образцов следует заранее подобрать опытным путем, используя как ориентир данные таблицы 2.

3. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов

**Абсолютные значения уровней содержания иммуноглобулинов
в различных биологических жидкостях у здоровых лиц (M±σ)**

*(Тотоян А.А. Современные подходы к диагностике
иммунопатологических состояний. Мед. иммунология,
1999, т.1 №1-2, с. 75-108)*

Биологические жидкости	Содержание иммуноглобулинов классов:					
	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л	sIgA, г/л	IgE, кЕ/л	
ЦСЖ	0,006±0,0013	0,0049±0,001	0,037±0,004	н/опр	0±0	
Слюна	0,069±0,028	0,055±0,011	0,042±0,017	0,768±0,275	н/опр	
Насальный смыв	0,014±0,006	0,025±0,017	0,042±0,017	0,071±0,022	0±0	
Ларингеальный секрет	0,071±0,022	0,063±0,044	0,085±0,044	1,31±1,87	н/опр	
Слезная жидкость	0,165±0,02	0,038±0,008	0,185±0,06	н/опр	н/опр	
Эякулят	1,01±0,67	0,9±0,46	0,51±0,2	2,21±1,01	0±0	
Сыворотка крови	2,15±0,85	1,63±0,46	12,3±2,97	0,79±0,22	50,0±12,5	

Примечание: н/опр – данный показатель не определяли.

Приведенные показатели можно использовать только как ориентировочные, и в каждой лаборатории рекомендуется вычислить собственные границы нормальных значений концентрации общего IgG в сыворотке крови.

учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_0 < ОП_{17,5} < ОП_{35} < ОП_{75} < ОП_{150} < ОП_{300}$;

– $ОП_{300} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации $IgG_{общ}$ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{17,5}$, $ОП_{35}$, $ОП_{75}$, $ОП_{150}$ и $ОП_{300}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов, содержащих 0; 17,5; 35; 75; 150 и 300 Ед/мл $IgG_{общ}$ соответственно.

4. Расчет результатов анализа

По результатам измерения вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности (ОП) в лунках с анализируемыми образцами.

Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации $IgG_{общ}$ (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить содержание $IgG_{\text{общ}}$ в контрольном и в анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию параллельно оси абсцисс до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации $IgG_{\text{общ}}$ в образце.

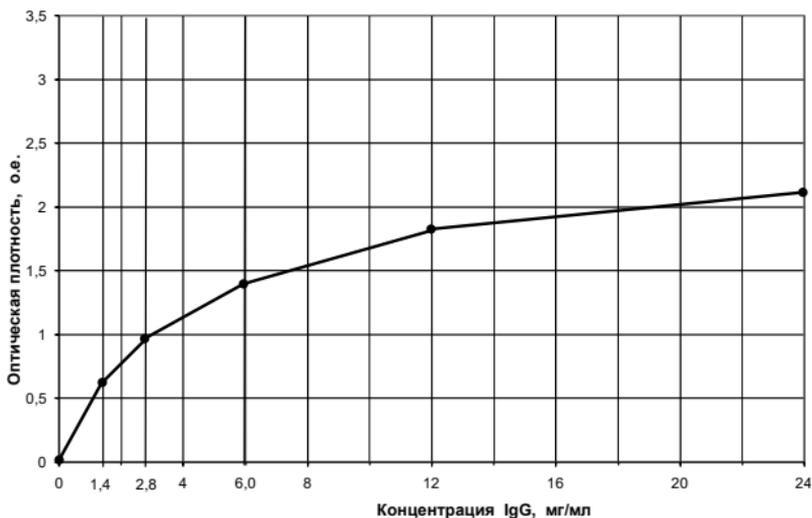


Рисунок. Зависимость оптической плотности от концентрации IgG в калибровочных пробах.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

5. Диагностическая значимость

IgG, как и другие иммуноглобулины, относится к гуморальным факторам иммунитета. Карта гуморального иммунитета довольно индивидуальна, тем не менее пределы нормальных физиологических концентраций достаточно хорошо очерчены.

Диапазоны концентрации IgG в сыворотке крови здоровых доноров, начиная с 12 лет, составляют 5,3–16,5 мг/мл (Тотолян А.А., Марфичева Н.А., Тотолян Н.А. «Имуноглобулины в клинической лабораторной диагностике», С-Пб, 1996).

По нашим собственным данным, концентрация IgG_{общ.} в сыворотке крови условно здоровых мужчин и женщин из юго-восточного региона Западной Сибири в возрасте 20–50 лет (n=107) в основном находится в диапазоне 60–200 Ед/мл (4,8–16,0 мг/мл); а у детей из этого же региона в возрасте 1–12 лет – соответственно в диапазоне 37–194 Ед/мл (2,96–15,52 мг/мл). Следует, однако, учитывать, что нормальные значения концентраций IgG_{общ.} могут довольно существенно отличаться в зависимости от реги-

она, возраста, экологических и многих других причин. Известно также, что для использования в диагностике часто бывает важнее знать не абсолютное значение концентрации общего иммуноглобулина, а его относительное отклонение от нормального местного, возрастного или, например, профессионального уровня. Поэтому нормальные региональные уровни общих иммуноглобулинов должны определяться каждой лабораторией самостоятельно.

У новорожденных детей уровень концентрации IgG в сыворотке крови часто такой же как у взрослых, однако уже через 1–2 месяца он уменьшается до 30–40% от исходного. Затем он медленно увеличивается, достигая к 6 месяцам 45% (в среднем), к 8–10 месяцам – 62%, к 6 годам – 90%, и только в 9–12 лет он, наконец, становится равным уровню взрослого человека. Отклонение концентрации IgG от нормы отражает состояние иммунной системы и может свидетельствовать о серьезном заболевании.

Результаты определения общего сывороточного иммуноглобулина G могут быть с успехом использованы для дифференциальной диагностики целого ряда заболеваний (см. Иммунограмму).

Во всех случаях более полную картину способно дать параллельное определение трех основных классов иммуноглобулинов – G, M и A, а также иммуноглобулина E (см. иммунограмму).

Иммунограмма при некоторых заболеваниях

	IgG	IgA	IgM	IgE
Заболевания печени				
Острый инфекционный гепатит	+	N/+	N/++	N
Хронический персистирующий гепатит	N/+	N	N/+	N/+
Хронический агрессивный гепатит	++	+	N/++	N/+
Постгепатитный криптогенный цирроз	++	+	+	N/+
Первичный билиарный цирроз	N/+	N	+/++	N
Алкогольный цирроз	N/+	++	N/+	N
Болезни почек				
Острый пиелонефрит	N	N	+/++	N
Хронический пиелонефрит	+/++	N	+/++	N/+
Нефротический синдром	—	—	N/—	N/—
Инфекционные заболевания				
Острая инфекция	N	N	+/++	N
Хроническая инфекция	+/++	N/+	N/+	N/+
Системные ревматические заболевания				
Ревматоидный артрит	N/++	N/++	N/+	+/++
Системная красная волчанка	+	N	N/+	N/+
Склеродермия	N	N	N	N/+
Смешанные системные заболевания	N/+	N/+	N	N/+
Атопия, аллергические заболевания	N/+	N	N/—	+/++
Гельминтозы и др. паразитарные заболевания	N/+	N/+	N/+	+/++

N – нормальная регионально-возрастная концентрация иммуноглобулина (в пределах нормального диапазона от N_{min} до N_{max})

+

++ – сильно повышенная концентрация иммуноглобулина (более 1,3N_{max})

– – пониженная концентрация иммуноглобулина (ниже N_{min})

**6. Краткая схема проведения ИФА для
набора реагентов
«IgG общий-ИФА-БЕСТ»**

*Использовать только после внимательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток;
по 20 мкл калибровочных и контрольного образцов в дублях в контрольные лунки;
по 20 мкл разведенных анализируемых образцов в дублях в лунки для исследуемых образцов.
- Инкубировать:** 20 мин, 37°C, 700 об/мин.
- Промыть:** промывочный раствор, 350 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 20 мин, 37°C, 700 об/мин.
- Промыть:** промывочный раствор, 350 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ плюс.
- Инкубировать:** 15 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

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	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-05-97.

12.11.18

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

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

www.vector-best.ru

ВЕКТОР



IgM общий-ИФА-БЕСТ

A-8664

Набор реагентов
для иммуноферментного определения
концентрации общего иммуноглобулина
класса М в сыворотке крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 14.08.18



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации общего иммуноглобулина класса М в сыворотке крови «IgM общий-ИФА-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для определения концентрации общего иммуноглобулина класса М ($IgM_{\text{общ}}$) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного, 6 калибровочных и 1 контрольного образцов (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич» – варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител к IgM.

На первой стадии калибровочные образцы с известной концентрацией $IgM_{\text{общ}}$ и анализируемые образцы инкубируются в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (МКАТ) к мю-цепям IgM. На второй стадии связавшийся в лунках IgM обрабатывают конъюгатом МКАТ к легким (лямбда и каппа) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой.

Образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные МКАТ – IgM – конъюгат» выявляют ферментативной реакцией с раствором тетраметилбензидаина. Степень окрашивания пропорциональна концентрации $IgM_{общ}$ в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация $IgM_{общ}$ в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к мю-цепям IgM человека, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества $IgM_{общ}$ – 0, 20, 40, 100, 200 и 400 Ед/мл (0; 0,16; 0,32; 0,8; 1,6 и 3,2 мг/мл), аттестованные относительно WHO International Standard Immunoglobulins G, A and M, human serum, NIBSC 67/086; концентрации $IgM_{общ}$ в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольный образец на основе инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием $IgM_{общ}$, аттестованный относительно WHO International Standard Immunoglobulins G, A and

- M, human serum, NIBSC 67/086; готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к легким цепям (лямбда и каппа) иммуноглобулинов человека с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
 - раствор для разведения сывороток (PPC), концентрат – 1 флакон (28 мл);
 - концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
 - раствор тетраметилбензидаина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
 - стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл);
 - пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
 - ванночка для реагента – 2 шт.;
 - наконечники для пипетки на 5–200 мкл – 16 шт.

Принадлежности:

- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. В наборе «IgM общий-ИФА-БЕСТ» используются моноклональные антитела, обладающие высокой специфичностью к мю-цепям IgM. Перекрестного связывания с IgG, IgA, IgE или альбумином в физиологических концентрациях не наблюдалось.

3.2. «Хук-эффект» при использовании набора реагентов не зафиксирован. Оптическая плотность образцов сыворотки крови с концентрацией $IgM_{общ}$ до 1000 Ед/мл всегда превышала оптическую плотность калибровочного образца с максимальной концентрацией $IgM_{общ}$.

3.3.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации $IgM_{общ}$ в лунках, содержащих контрольный образец, не превышает 8%.

3.4.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчетной величины концентрации $IgM_{общ}$ при разведении калибровочных образцов, содержащих 400, 200, 100 и 40 Ед/мл, в 2 раза. Процент «линейности» составляет 90–110%.

3.5.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации $IgM_{общ}$ расчетному значению в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца с концентрацией $IgM_{общ}$ 40 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.6.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация $IgM_{общ}$, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного

* по ГОСТ Р 51352-2013.

образца B_0 (с концентрацией $IgM_{общ}$ 0 Ед/мл) плюс 2σ (σ -среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0), не превышает 4 Ед/мл (0,032 мг/мл).

3.7. Клиническая проверка. Концентрация $IgM_{общ}$, измеренная в сыворотке крови условно здоровых доноров находилась в диапазоне 60÷270 Ед/мл (см. также стр. 28).

3.8. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации $IgM_{общ}$, соответствующие нормальным для данного региона, у обследуемого контингента людей.

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 инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболе-

ваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Лабораторная посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС,

спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. 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 реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ C$ и 400–800 об/мин;
- микроцентрифуга, позволяющая центрифугировать при 1500–2000 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;

- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 48 часов или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес. Повторное замораживание и размораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при температуре от 18 до 25°C не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 часа после установки. Оставшиеся стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Раствор готовится из концентрата фосфатно-солевого буферного раствора. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

7.4. Приготовление рабочего раствора для разведения сывороток.

Приготовить за 30 мин до начала постановки анализа.

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

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата раствора для разведения сывороток и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

Приготовленный рабочий раствор для разведения сывороток можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 3 сут.

7.5. Подготовка калибровочных образцов и контрольного образца.

Калибровочные образцы и контрольный образец готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием флаконы встряхнуть или центрифугировать на микроцентрифуге так, чтобы капли растворов со стенок и крышки опустились на

дно. Затем содержимое флаконов тщательно перемешать на вортексе или пипетированием, избегая образования пены.

Калибровочные образцы и контрольный образец после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.6. Приготовление рабочего разведения анализируемых образцов сыворотки крови.

Готовятся в стеклянных заранее промаркированных флаконах за 5–10 мин до начала постановки анализа.

Таблица 1

Кол-во используемых стрипов	Промывочный раствор		Рабочий раствор для разведения сывороток		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистил. вода, мл	PPC, концентрат, мл	Дистил. вода, мл		
2	4,0	до 100	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	24,0	до 600	12,0	12,0

В чистый флакон с 10 мл рабочего раствора для разведения сывороток (см п. 7.4) добавить 10 мкл исследуемой сыворотки и тщательно перемешать. Таким образом, рабочее разведение сыворотки составит 1000 раз*.

Использовать в течение 30 мин после приготовления.

7.7. Подготовка конъюгата.

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).

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

Конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.8. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс.

Раствор ТМБ плюс готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

* См. также раздел «Дополнительная информация для потребителей», п. 2

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

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина плюс.

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

Раствор ТМБ плюс после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.9. Стоп-реагент готов к использованию.

После вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.10. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток (см п. 7.4).

Внести в соответствующие лунки в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 20 мкл каждого калибровочного образца. В следующую пару лунок внести по 20 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 20 мкл анализируемых образцов сыворотки крови в рабочем разведении (см п. 7.6.), каждый раз меняя наконечник.

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

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на термостатируемом шейкере при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ и 700 об/мин.

7.12. По окончании инкубации снять пленку и удалить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 350 мкл промывочного раствора (см п. 7.3.). Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки планшета по 100 мкл конъюгата (см п. 7.7.).

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

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на термостатируемом шейкере при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ и 700 об/мин.

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

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидаина плюс (см п. 7.8.) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре от 18 до 25°C.

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

7.17. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидаина плюс, по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только с фильтром 450 нм. Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации $IgM_{общ}$ в калибровочных образцах (Ед/мл или мг/мл).

9.3. Определить концентрацию $IgM_{общ}$ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих анализируемые образцы.

9.4. Если при проведении анализа использовали разведение сыворотки в 1000 раз (базовое разведение для данного набора), то найденное по графику количество $IgM_{общ}$ соответствует концентрации $IgM_{общ}$ в анализируемом образце в Ед/мл (мг/мл). Если использовали другое разведение образца, то найденное по графику количество $IgM_{общ}$ пересчитывают с учетом дополнительного разведения, также получая в результате концентрацию $IgM_{общ}$ в Ед/мл (мг/мл).

Если значение оптической плотности анализируемого образца превышает значение ОП для калибровочного образца 400 Ед/мл (3,2 мг/мл), то данный образец анализируют повторно после дополнительного разведения в 2 раза, полученный результат умножают на 2.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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 от 2 до 8°C в течение всего срока годности;
- калибровочные образцы, контрольный образец и конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, концентрат раствора для разведения сыво-

роток, раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;

- рабочий раствор для разведения сывороток можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 3 сут;
- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

10.5. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, рекомендуется также каждый раз определять концентрацию $IgM_{\text{общ}}$ в контрольном образце.

10.6. Для перевода результатов измерений концентрации иммуноглобулина М из Ед/мл в мг/мл следует использовать коэффициент пересчета 0,008 (1 Ед/мл $IgM = 0,008$ мг/мл IgM).

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

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

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 функциональные 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 «IgM общий-ИФА-БЕСТ», следует обращаться

в АО «Вектор-БЕСТ» по адресу:

630559, Новосибирская область,

Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 363-20-60, 227-75-43,

тел./факс (383) 363-35-55.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ.

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации $IgM_{\text{общ}}$ в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. 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 влиять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования обрабатывайте 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором ТМБ из флакона необходимо обрабатывать 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 с ТМБ;

– если допущена ошибка при внесении в лунку анализируемого образца, 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 используйте автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

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

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

2. Рекомендации по подготовке анализируемых образцов

Вместо одноступенчатого (п. 7.6.) допустимо проводить двухступенчатое разведение сывороток с использованием планшета для предварительного разведения исследуемых образцов. Для этого, в каждую лунку планшета для предварительного разведения внести по 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток. Далее в одну из лунок, например, А-1, добавить 10 мкл исследуемой сыворотки, сменить использованный наконечник пипетки на новый и затем с его помощью тщательно перемешать содержимое лунки (5–6 круговых движений, во время которых следует 3–4 раза набрать и опорожнить наконечник), избегая образования пены. После

этого из лунки отобрать 10 мкл, внести в соседнюю лунку, например, А-2, и таким же образом тщательно перемешать (для этой операции также желательна использовать новый чистый наконечник пипетки). В лунке А-2 получаем рабочее разведение сыворотки 1000 раз. Аналогично развести и другие исследуемые сыворотки (например, в лунках В-1 и В-2, С-1 и т.д.):

– 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток + 10 мкл исследуемого образца → предварительное разведение образца в 32 раза;

– 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток + 10 мкл образца после предварительного разведения → рабочее разведение образца в 1000 раз.

Внимание! Точность приготовления разведений определяет качество постановки теста!

При исследовании не сыворотки, а других биологических жидкостей, степень разведения исследуемых образцов следует заранее подобрать опытным путем, используя как ориентир данные таблицы 2.

3. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных образцов:

$ОП_0 < ОП_{20} < ОП_{40} < ОП_{100} < ОП_{200} < ОП_{400}$;

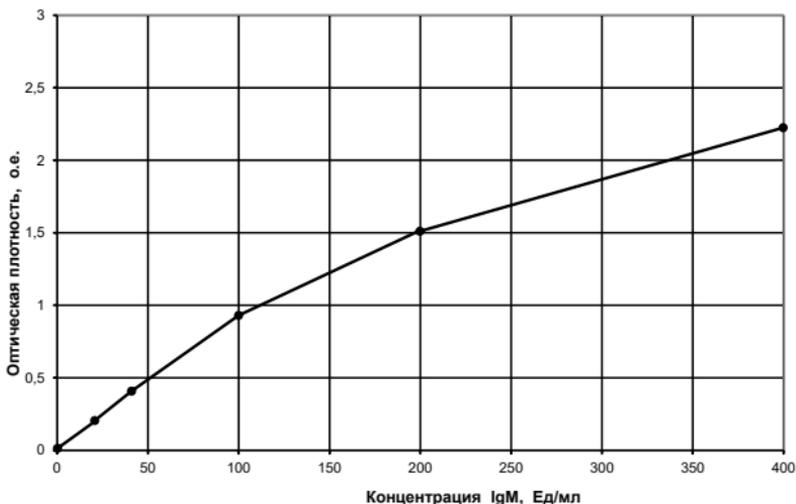


Рисунок. Зависимость оптической плотности от концентрации IgM_{общ} в калибровочных образцах.

- ОП₄₀₀ ≥ 1,0 ед. опт. плотн. (о.е.);
- вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgM_{общ} в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

ОП₀, ОП₂₀, ОП₄₀, ОП₁₀₀, ОП₂₀₀ и ОП₄₀₀ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0; 20; 40; 100; 200 и 400 мг/мл соответственно.

4. Расчет результатов анализа

По результатам измерения вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности (ОП) в лунках с анализируемыми образцами.

Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации $IgM_{\text{общ}}$ (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить содержание $IgM_{\text{общ}}$ в контрольном и в анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию параллельно оси абсцисс до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации $IgM_{\text{общ}}$ в образце.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

5. Диагностическая значимость

IgM , как и другие иммуноглобулины, относится к гуморальным факторам иммунитета.

Карта гуморального иммунитета довольно индивидуальна, тем не менее, пределы нормальных физиологических концентраций достаточно хорошо очерчены.

По нашим данным, концентрация $IgM_{\text{общ}}$ в сыворотке крови клинически здоровых доноров (Новосибирская область, Алтайский край) в возрасте от 20 до 50 лет находится в пределах диапазона 60–250 Ед/мл (0,48–2,0 мг/мл). У детей того же региона в возрасте 1–15 лет концентрация $IgM_{\text{общ}}$ составила 60–270 Ед/мл (0,48–2,16 мг/мл). Эти значения в целом близки нормальным значениям концентрации IgM (0,5–2,0 мг/мл), приводимым в работе Тотолян А.А., Марфичева Н.А., Тотолян Н.А. «Иммуноглобулины в клинической лабораторной диагностике», С-Пб, 1999. Однако их можно использовать только как ориентировочные, поскольку диапазоны нормальных концентраций IgM могут довольно существенно отличаться в зависимости от региона, возраста и некоторых др. причин. Известно также, что для использования в диагностике важнее знать не абсолютное значение концентрации общего иммуноглобулина, а его относительное отклонение от нормального местного, возрастного или, например, профессионального уровня. **В идеале, нормальные региональные уровни и по взрослым и по детям должны определяться каждой лабораторией самостоятельно!**

**Абсолютные значения уровней содержания иммуноглобулинов
в различных биологических жидкостях у здоровых лиц (M±б)**

*(Томолян А.А. Современные подходы к диагностике
иммунопатологических состояний. Мед. иммунология,
1999, т.1 №1-2, с. 75-108)*

Биологические жидкости	Содержание иммуноглобулинов классов:					
	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л	IgA, г/л	IgE, кЕ/л	
ЦСЖ	0,006±0,0013	0,0049±0,001	0,037±0,004	н/опр	0±0	
Слюна	0,069±0,028	0,055±0,011	0,042±0,017	0,768±0,275	н/опр	
Назальный смыв	0,014±0,006	0,025±0,017	0,042±0,017	0,071±0,022	0±0	
Ларингеальный секрет	0,071±0,022	0,063±0,044	0,085±0,044	1,31±1,87	н/опр	
Слезная жидкость	0,165±0,02	0,038±0,008	0,185±0,06	н/опр	н/опр	
Эякулят	1,01±0,67	0,9±0,46	0,51±0,2	2,21±1,01	0±0	
Сыворотка крови	2,15±0,85	1,63±0,46	12,3±2,97	0,79±0,22	50,0±12,5	

Примечание: н/опр – данный показатель не определяли.

Приведенные показатели можно использовать только как ориентировочные, и в каждой лаборатории рекомендуется вычислить собственные границы нормальных значений концентрации общего IgM в сыворотке крови.

Уровень концентрации общего IgM в сыворотке крови новорожденных составляет около 10% от уровня взрослых. Через 1–3 месяца он увеличивается до 60-65%, а еще через 1–2 года нередко уже достигает уровня взрослого человека. Однако в этом возрасте возможны его значительные колебания. У подавляющего же большинства здоровых детей уровень концентрации общего IgM стабилизируется и становится равным уровню взрослых в возрасте 6–8 лет.

Результаты определения концентрации общего сывороточного IgM могут быть с успехом использованы для дифференциальной диагностики целого ряда заболеваний (см. иммунограмму).

Более полную картину способно дать параллельное определение всех трех основных классов иммуноглобулинов – G, M и A, а также иммуноглобулина E.

Иммунограмма при некоторых заболеваниях

	IgG	IgA	IgM	IgE
Заболевания печени				
Острый инфекционный гепатит	+	N/+	N/++	N
Хронический персистирующий гепатит	N/+	N	N/+	N/+
Хронический агрессивный гепатит	++	+	N/++	N/+
Постгепатитный криптогенный цирроз	++	+	+	N/+
Первичный билиарный цирроз	N/+	N	+/++	N
Алкогольный цирроз	N/+	++	N/+	N
Болезни почек				
Острый пиелонефрит	N	N	+/++	N
Хронический пиелонефрит	+/++	N	+/++	N/+
Нефротический синдром	—	—	N/—	N/—
Инфекционные заболевания				
Острая инфекция	N	N	+/++	N
Хроническая инфекция	+/++	N/+	N/+	N/+
Системные ревматические заболевания				
Ревматоидный артрит	N/++	N/++	N/+	+/++
Системная красная волчанка	+	N	N/+	N/+
Склеродермия	N	N	N	N/+
Смешанные системные заболевания	N/+	N/+	N	N/+
Атопия, аллергические заболевания	N/+	N	N/—	+/++
Гельминтозы и др. паразитарные заболевания	N/+	N/+	N/+	+/++

N – нормальная регионально-возрастная концентрация иммуноглобулина (в пределах нормального диапазона от N_{min} до N_{max})

+

– повышенная концентрация иммуноглобулина (от N_{max} до 1,3N_{max})

++ – сильно повышенная концентрация иммуноглобулина (более 1,3N_{max})

– – пониженная концентрация иммуноглобулина (ниже N_{min})

6. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «IgM общий-ИФА-БЕСТ»

*Использовать только после внимательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток;
по 20 мкл калибровочных и контрольного образцов в дублях в контрольные лунки;
по 20 мкл разведенных анализируемых образцов в дублях в лунки для исследуемых образцов.
- Инкубировать:** 20 мин, 37°C, 700 об/мин.
- Промыть:** промывочный раствор, 350 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 20 мин, 37°C, 700 об/мин.
- Промыть:** промывочный раствор, 350 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ плюс.
- Инкубировать:** 15 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

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	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-05-97.

12.11.18

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

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

www.vector-best.ru

ВЕКТОР



IgA общий-ИФА-БЕСТ

A-8666

Набор реагентов
для иммуноферментного определения
концентрации общего иммуноглобулина
класса А в сыворотке крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 14.08.2018



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации общего иммуноглобулина класса А в сыворотке крови «IgA общий-ИФА-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для определения концентрации общего иммуноглобулина класса А ($IgA_{общ}$) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного, 6 калибровочных и 1 контрольного образцов (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител к IgA .

На первой стадии калибровочные образцы с известной концентрацией $IgA_{общ}$ и анализируемые образцы инкубируются в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (МКАТ) к альфа-цепям IgA . На второй стадии связавшийся в лунках $IgA_{общ}$ обрабатывают конъюгатом МКАТ к легким (лямбда и каппа) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой.

Образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные МКАТ – IgA – конъюгат» вызывают ферментативной реакцией с раствором тетраметилбензида. Степень окрашивания пропорциональна концентрации $IgA_{\text{общ}}$ в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация $IgA_{\text{общ}}$ в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к альфа-цепям IgA человека, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества $IgA_{\text{общ}}$ – 0; 17,5; 35; 75; 150; 300 Ед/мл (0; 0,25; 0,49; 1,05; 2,1 и 4,2 мг/мл); аттестованные относительно WHO International Standard Immunoglobulins G, A and M, human serum, NIBSC 67/086; концентрации $IgA_{\text{общ}}$ в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольный образец на основе инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием $IgA_{\text{общ}}$, аттестованный относительно WHO International Standard Immunoglobulins G, A and

- М, human serum, NIBSC 67/086; готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к легким (лямбда и каппа) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
 - раствор для разведения сывороток (PPC), концентрат – 1 флакон (28 мл);
 - концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
 - раствор тетраметилбензидаина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
 - стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).
 - пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
 - ванночка для реагента – 2 шт.;
 - наконечники для пипетки на 5–200 мкл – 16 шт.;
 - планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

Принадлежности:

- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. В наборе «IgA общий-ИФА-БЕСТ» используются моноклональные антитела, обладающие высокой специфичностью к альфа-цепям IgA. Перекрестного связывания с IgG, IgM, IgE или альбумином в физиологических концентрациях не наблюдалось.

3.2. «Хук»-эффект при использовании набора реагентов не зафиксирован. Оптическая плотность образцов сыворотки крови с концентрацией $IgA_{общ}$ до 1000 Ед/мл всегда превышала оптическую плотность калибровочного образца с максимальной концентрацией $IgA_{общ}$.

3.3.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации $IgA_{общ}$ в лунках, содержащих контрольный образец, не превышает 8%.

3.4.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» - отклонение от расчетной величины концентрации $IgA_{общ}$ при разведении калибровочных образцов, содержащих 300, 150, 75, 35 Ед/мл в 2 раза. Процент «линейности» составляет: 90–110 %.

3.5.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации $IgA_{общ}$ расчетному значению в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца с концентрацией $IgA_{общ}$ 35 Ед/мл (0,49 мг/мл). Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.6.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация $IgA_{общ}$, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного

* по ГОСТ Р 51352-2013.

образца V_0 (с концентрацией $IgA_{\text{общ}}$ 0 Ед/мл) плюс 2σ (σ – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения V_0) не превышает 1,5 Ед/мл (0,021 мг/мл).

3.7. Клиническая проверка. Концентрация $IgA_{\text{общ}}$, измеренная в сыворотке крови, у условно здоровых доноров, находилась в диапазоне 20÷285 Ед/мл (см. также с. 29).

3.8. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации $IgA_{\text{общ}}$, соответствующие нормальным для данного региона у обследуемого контингента людей.

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 инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболе-

ваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Лабораторная 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 , дioxлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. При использовании набора образуются отходы классов А, В 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 реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ C$ и 400–800 об/мин;
- микроцентрифуга, позволяющая центрифугировать при 1500–2000 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;

- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 48 часов, при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 месяцев. Повторное замораживание и размораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы следует выдерживать при температуре от 18 до 25°C не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 часа после установки. Оставшиеся стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Раствор готовится из концентрата фосфатно-солевого буферного раствора. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре 30–40°C до полного растворения осадка.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

7.4. Приготовление рабочего раствора для разведения сывороток

Приготовить за 30 мин до начала постановки анализа.

При выпадении осадка солей в концентрате РРС необходимо прогреть его при температуре 30–40°C до полного растворения осадка.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата раствора для разведения сывороток и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

Приготовленный рабочий раствор для разведения сывороток можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 3 сут.

7.5. Приготовление калибровочных образцов и контрольного образца

Калибровочные образцы и контрольный образец готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием флаконы встряхнуть или центрифугировать на микроцентрифуге так, чтобы капли растворов со стенок и крышки опустились на дно. Затем содержимое флаконов тщательно

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во одновременно используемых стрипов	Промывочный раствор		Рабочий раствор для разведения сывороток		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, мл	Дистиллированная вода, мл	PPC, концентрат, мл	Дистиллированная вода, мл		
2	4,0	до 100	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	24,0	до 600	12,0	12,0

перемешать на вортексе или пипетированием, избегая образования пены.

Калибровочные образцы и контрольный образец после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.6. Приготовление рабочего разведения анализируемых образцов сыворотки крови

Готовится в стеклянных заранее промаркированных флаконах за 5–10 мин до начала постановки анализа.

В чистый флакон с 10 мл рабочего раствора для разведения сывороток (см. п. 7.4) добавить 10 мкл исследуемой сыворотки и тщательно перемешать. Таким образом, рабочее разведение сыворотки составляет 1000 раз*.

Использовать в течение 30 мин после приготовления.

7.7. Подготовка конъюгата.

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).

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

Конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.8. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс.

* См. также раздел «Дополнительная информация для потребителей», п. 2

Раствор ТМБ плюс готов к использованию. Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

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

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ плюс.

Раствор ТМБ плюс после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

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

7.9. Стоп-реагент готов к использованию.

После вскрытия стоп-реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.10. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток (см п. 7.4).

Внести в соответствующие лунки в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 20 мкл каждого калибровочного образца. В следующую пару лунок внести по 20 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 20 мкл анализируемых образцов сы-

воротки крови в рабочем разведении (см п. 7.6), каждый раз меняя наконечник.

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

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на термостатируемом шейкере при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ и 700 об/мин.

7.12. По окончании инкубации снять липкую пленку и удалить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 350 мкл промывочного раствора. Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки планшета по 100 мкл конъюгата (см п. 7.7).

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

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на

термостатируемом шейкере при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 700 об/мин.

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

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ плюс (см п. 7.8) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре от 18 до 25°C .

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

7.17. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ плюс, по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только с фильтром 450 нм. Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации $IgA_{общ}$ в калибровочных образцах (Ед/мл или мг/мл).

9.3. Определить концентрацию $IgA_{общ}$ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих анализируемые образцы.

9.4. Если при проведении анализа использовали разведение сыворотки в 1000 раз (базовое разведение для данного набора), то найденное по графику количество $IgA_{общ}$ соответствует концентрации $IgA_{общ}$ в анализируемом образце в Ед/мл (мг/мл). Если использовали другое разведение образца, то найденное по графику количество $IgA_{общ}$ пересчитывают с учетом дополнительного разведения, также получая в результате концентрацию $IgA_{общ}$ в Ед/мл (мг/мл).

Если значение оптической плотности анализируемого образца превышает значение ОП для калибровочного образца 300 Ед/мл (4,2 мг/мл), то данный образец анализируют повторно после до-

полнительного разведения в 2 раза, полученный результат умножить на 2.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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 от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- калибровочные образцы, контрольный образец и конъюгат после вскрытия можно хранить в плот-

- но закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, концентрат раствора для разведения сывороток; раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
 - рабочий раствор для разведения сывороток можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 3 сут;
 - промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

10.5. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, рекомендуется также каждый раз определять концентрацию $IgA_{общ}$ в контрольном образце.

10.6. Для перевода результатов измерений концентрации общего иммуноглобулина класса А из Ед/мл в мг/мл следует использовать коэффициент пересчета 0,014 ($1 \text{ Ед/мл } IgA_{общ} = 0,014 \text{ мг/мл } IgA_{общ}$).

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

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

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 функциональные 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
«IgA общий-ИФА-БЕСТ»,**

следует обращаться в АО «Вектор-Бест»

по адресу:

630559, Новосибирская область,

Новосибирский район,

п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 363-20-60, 227-75-43,

тел./факс (383) 363-35-55,

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

**ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ**

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgA в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. 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 влиять на ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования обрабатывайте 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором ТМБ из флакона необходимо обрабатывать 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 с ТМБ;

– если допущена ошибка при внесении анализируемого образца, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

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

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

2. Рекомендации по подготовке анализируемых образцов

Вместо одноступенчатого (п. 7.6.) допустимо проводить двухступенчатое разведение сывороток

с использованием планшета для предварительного разведения исследуемых образцов. Для этого, в каждую лунку планшета для предварительного разведения внести по 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток. Далее в одну из лунок, например, А-1, добавить 10 мкл исследуемой сыворотки, сменить использованный наконечник пипетки на новый и затем с его помощью тщательно перемешать содержимое лунки (5–6 круговых движений, во время которых следует 3–4 раза набрать и опорожнить наконечник), избегая образования пены. После этого из лунки отобрать 10 мкл, внести в соседнюю лунку, например, А-2, и таким же образом тщательно перемешать (для этой операции также желательно использовать новый чистый наконечник пипетки). В лунке А-2 получаем рабочее разведение сыворотки 1000 раз. Аналогично развести и другие исследуемые сыворотки (например, в лунках В-1 и В-2, С-1 и т.д.):

– 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток + 10 мкл исследуемого образца → предварительное разведение образца в 32 раза;

– 310 мкл рабочего раствора для разведения сывороток + 10 мкл образца после предварительного разведения → рабочее разведение образца в 1000 раз.

Внимание! Точность приготовления разведений определяет качество постановки теста!

При исследовании не сыворотки, а других биологических жидкостей, степень разведения исследуемых образцов следует заранее подобрать

Абсолютные значения уровней содержания иммуноглобулинов в различных биологических жидкостях у здоровых лиц (M±б)
(Топольян А.А. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний. Мед.иммунология, 1999, т.1 №1-2, с. 75-108)

Биологические жидкости	Содержание иммуноглобулинов классов:					
	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л	sIgA, г/л	IgE, кЕ/л	
ЦСЖ	0,006±0,0013	0,0049±0,001	0,037±0,004	н/опр	0±0	
Слюна	0,069±0,028	0,055±0,011	0,042±0,017	0,768±0,275	н/опр	
Назальный смыв	0,014±0,006	0,025±0,017	0,042±0,017	0,071±0,022	0±0	
Ларингеальный секрет	0,071±0,022	0,063±0,044	0,085±0,044	1,31±1,87	н/опр	
Слезная жидкость	0,165±0,02	0,038±0,008	0,185±0,06	н/опр	н/опр	
Эякулят	1,01±0,67	0,9±0,46	0,51±0,2	2,21±1,01	0±0	
Сыворотка крови	2,15±0,85	1,63±0,46	12,3±2,97	0,79±0,22	50,0±12,5	

Примечание: н/опр – данный показатель не определяли.

Приведенные показатели можно использовать только как ориентировочные, и в каждой лаборатории рекомендуется вычислить собственные границы нормальных значений концентрации общего IgA в сыворотке крови.

опытным путем, используя как ориентир данные таблицы 2.

3. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_0 < ОП_{17,5} < ОП_{35} < ОП_{75} < ОП_{150} < ОП_{300}$;

– $ОП_{300} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации $IgA_{общ}$ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{17,5}$, $ОП_{35}$, $ОП_{75}$, $ОП_{150}$ и $ОП_{300}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов, содержащих 0; 17,5; 35; 75; 150 и 300 Ед/мл $IgA_{общ}$ соответственно.

4. Расчет результатов анализа

По результатам измерения вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности (ОП) в лунках с анализируемыми образцами.

Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации $IgA_{общ}$ (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого

калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить содержание $IgA_{\text{общ}}$ в контрольном образце и в анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить

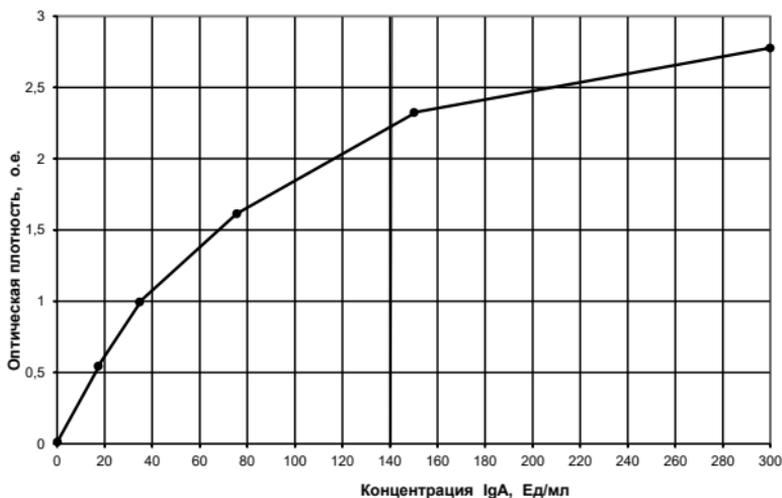


Рис. Зависимость оптической плотности от концентрации $IgA_{\text{общ}}$ в калибровочных образцах.

перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации $IgA_{\text{общ}}$ в образце.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

5. Диагностическая значимость

IgA , как и другие иммуноглобулины, относится к гуморальным факторам иммунитета. Карта гуморального иммунитета довольно индивидуальна, тем не менее, пределы нормальных физиологических концентраций достаточно хорошо очерчены.

По нашим данным, концентрация $IgA_{\text{общ}}$ в сыворотке крови клинически здоровых доноров (Новосибирская область, Алтайский край) в возрасте от 20 до 50 лет находится в пределах диапазона 57–285 Ед/мл (0,8–4,0 мг/мл). У детей этого же региона в возрасте 1–15 лет концентрация $IgA_{\text{общ}}$ составила 20–200 Ед/мл. Эти значения в целом близки нормальным значениям концентрации IgA , приводимым в работе (Тотолян А.А., Марфичева Н.А., Тотолян Н.А. «Имуноглобулины в клинической лабораторной диагностике», С-Пб, 1999.). Однако их можно использовать только как ориентировочные, поскольку диапазоны нормальных концентраций

IgA могут довольно существенно отличаться в зависимости от региона, возраста и некоторых др. причин. Известно также, что для использования в диагностике важнее знать не абсолютное значение концентрации общего иммуноглобулина, а его относительное отклонение от нормального местного, возрастного или, например, профессионального уровня. **В идеале, нормальные региональные уровни и по взрослым и по детям должны определяться каждой лабораторией самостоятельно!**

Уровень концентрации общего IgA в сыворотке крови новорожденных составляет около 1% от уровня взрослых. В возрасте 1–3 месяцев он обычно достигает 14%, 4–5 месяцев – 28%, 8–24 месяцев – 40%, 6 лет – 65%, 9 лет – 75%, 12–13 лет – 90–100% от уровня взрослого человека (15–45 лет).

Результаты определения концентрации общего сывороточного IgA могут быть с успехом использованы для дифференциальной диагностики целого ряда заболеваний (см. иммунограмму).

Более полную картину способно дать параллельное определение всех трех основных классов иммуноглобулинов – G, M и A, а также иммуноглобулина E.

Иммунограмма при некоторых заболеваниях

	IgG	IgA	IgM	IgE
Заболевания печени				
Острый инфекционный гепатит	+	N/+	N/++	N
Хронический персистирующий гепатит	N/+	N	N/+	N/+
Хронический агрессивный гепатит	++	+	N/++	N/+
Постгепатитный криптогенный цирроз	++	+	+	N/+
Первичный билиарный цирроз	N/+	N	+/>++	N
Алкогольный цирроз	N/+	++	N/+	N
Болезни почек				
Острый пиелонефрит	N	N	+/>++	N
Хронический пиелонефрит	+/>++	N	+/>++	N/+
Нефротический синдром	—	—	N/—	N/—
Инфекционные заболевания				
Острая инфекция	N	N	+/>++	N
Хроническая инфекция	+/>++	N/+	N/+	N/+
Системные ревматические заболевания				
Ревматоидный артрит	N/++	N/++	N/+	+/>++
Системная красная волчанка	+	N	N/+	N/+
Склеродермия	N	N	N	N/+
Смешанные системные заболевания	N/+	N/+	N	N/+
Атопия, аллергические заболевания	N/+	N	N/—	+/>++
Гельминтозы и др. паразитарные заболевания	N/+	N/+	N/+	+/>++

N – нормальная регионально-возрастная концентрация иммуноглобулина (в пределах нормального диапазона от N_{min} до N_{max})

+

++ – сильно повышенная концентрация иммуноглобулина (более 1,3N_{max})

– – пониженная концентрация иммуноглобулина (ниже N_{min})

6. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «IgA общий-ИФА-БЕСТ»

*Использовать только после внимательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток;
по 20 мкл калибровочных и контрольного образцов в дублях в контрольные лунки;
по 20 мкл разведенных анализируемых образцов в дублях в лунки для исследуемых образцов.
- Инкубировать:** 20 мин, 37°C, 700 об/мин.
- Промыть:** промывочный раствор, 350 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 20 мин, 37°C, 700 об/мин.
- Промыть:** промывочный раствор, 350 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ плюс.
- Инкубировать:** 15 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

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	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-05-97.

12.11.18.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

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

www.vector-best.ru
