

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

24.09.2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для экспресс-выявления
антител к антигену *CagA Helicobacter pylori*
в крови, сыворотке и плазме человека методом дот-анализа
«Хелико-Экспресс»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1. Набор реагентов предназначен для экспресс-выявления антител к антигену *CagA Helicobacter pylori* в крови, сыворотке и плазме человека методом дот-анализа.
- 1.2. Набор рассчитан на проведение 13 анализов, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на дот-иммуноанализе на твёрдофазном носителе. Исследуемый образец наносят на поверхность иммуносорбента, содержащего рекомбинантный антиген *CagA Helicobacter pylori*. При протекании образца сквозь мембрану происходит взаимодействие содержащихся в нём антител с сорбированным антигеном. В зоне сорбции антигена образуются иммунные комплексы, которые затем выявляют с помощью реакции связывания антител с иммунозолотым конъюгатом. Большая сорбционная ёмкость нитроцеллюлозы и проточный режим работы обеспечивают быстроту проведения анализа при сохранении высокой чувствительности и специфичности теста.

Время проведения анализа – 10 минут. Учёт результатов визуальный сразу после проведения анализа.

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения экспресс-диагностики Н.Ю. Федосовой

2.2. Состав набора

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты:

- иммуносорбент – нитроцеллюлозная мембрана с сорбированными рекомбинантным антигеном *CagA Helicobacter pylori* и рекомбинантным белком А *Staphylococcus aureus* (золотистого стафилококка), упакованная вместе с пористой подложкой в пластмассовую кассету с фильтром для образца – 13 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей антитела к антигену *CagA Helicobacter pylori* – опалесцирующая жидкость желтого цвета – 1 флакон (0,15 мл);
- слабоположительный контрольный образец (СПК), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей антитела к антигену *CagA Helicobacter pylori* – опалесцирующая жидкость желтого цвета – 1 фл. (0,15 мл)
- отрицательный контрольный образец (K^-), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащей антитела к антигену *CagA Helicobacter pylori* – опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета – 1 флакон (0,15 мл);
- конъюгат - рекомбинантный белок А золотистого стафилококка, сорбированный на частицах коллоидного золота – вязкая жидкость темно-красного цвета – 1 флакон (0,20 мл);
- раствор для разведения образцов (РРО) – бесцветная или светло-желтая опалесцирующая жидкость – 1 флакон (1,0 мл);
- отмывающий раствор (ОР) – прозрачная бесцветная жидкость – 1 флакон (20 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность по антителам к *CagA Helicobacter pylori* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-85) – 100%.

3.2. Специфичность по антителам к *CagA Helicobacter pylori* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-85) – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Все компоненты набора являются нетоксичными.

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:

- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- перчатки резиновые хирургические;
- одноразовые пластиковые пробирки типа Эппендорф;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа использовать только свежую кровь из вены или из пальца.

Также возможно использовать свежеприготовленные сыворотку и плазму крови. Допускается использование образцов (сыворотки и плазмы), хранившихся при температуре от 2 до 8 °C не более 5 суток, либо при минус температуре (20 ± 3) °C не более 1 мес.

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

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов анализа.

Перед проведением анализа все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °C.

Для приготовления растворов и проведения анализа следует использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

Если для анализа были использованы не все кассеты с иммуносорбентом, то оставшиеся не вскрытые пакеты с кассетами, а также плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре от 2 до 8 °C в течение всего срока годности.

Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить за 10-15 минут до его использования.

При постановке анализа нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов.

При приготовлении растворов и проведении анализа следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество дот-иммуноанализа, 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. Подготовка исследуемых образцов

Перемешать содержимое флакона с раствором для разведения образцов.

В одноразовую пластмассовую пробирку типа Эппендорф внести 30 мкл раствора для разведения образцов, добавить 30 мкл исследуемого образца (свежая кровь, сыворотка или плазма), перемешать пипетированием, выдержать не менее 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

Хранение: при температуре от 18 до 25 °C 1 час.

7.2.2. Подготовка контрольных образцов K^+ , СПК и K^-

Внимание! Положительный, слабоположительный и отрицательный контрольные образцы готовы к использованию и тестируются только при первичном применении данного набора.

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

7.2.3. Подготовка раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в одноразовой пластиковой пробирке типа Эппендорф.

Внимание! Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток. Так как конъюгат обладает повышенной вязкостью, его следует набирать из пробирки медленно. Собравшийся на внешней поверхности наконечника конъюгат следует удалить, касаясь внутренней поверхности пробирки.

В одноразовую пластиковую пробирку внести необходимое количество (см. таблицу) конъюгата, добавить соответствующее количество отмывающего раствора, тщательно перемешать пипетированием.

Хранение: при температуре от 18 до 25 °С в течение 1 ч.

Таблица расхода реагентов

Количество анализов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Количество конъюгата (мкл)	10	15	20	25	30	40	45	50	55	60	70	75	80
Количество ОР (мкл)	40	60	80	100	120	160	180	200	220	240	280	300	320

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Вскрыть пакеты и извлечь необходимое количество кассет с фильтрами. При первичном применении набора использовать по одной кассете для анализа положительного контрольного образца, слабоположительного контрольного образца и отрицательного контрольного образца. Проверить плотность прилегания фильтра в отверстии кассеты. Промаркировать кассеты.

Анализ каждого образца проводить отдельно от начала до конца на соответствующей промаркированной кассете.

7.3.2. Нанести на фильтр 4 капли отмывающего раствора.

7.3.3. После полного протекания отмывающего раствора пипеткой нанести в центр фильтра 4 раза по 10 мкл контрольного образца или подготовленного исследуемого образца (п. 7.2.1). Каждое следующее нанесение производить только после того, как полностью впиталось предыдущее.

7.3.4. После полного протекания образца нанести на фильтр 4 капли отмывающего раствора.

7.3.5. После полного протекания отмывающего раствора удалить фильтр из отверстия кассеты.

7.3.6. В отверстие кассеты внести 4 капли отмывающего раствора.

7.3.7. После полного протекания отмывающего раствора в отверстие кассеты внести пипеткой ▲* раза по 10 мкл рабочего разведения конъюгата (п. 7.2.3.). При нанесении следует ориентироваться на точку на мембране. Каждое последующее нанесение производить только после того, как полностью впиталось предыдущее.

* ▲ - количество нанесений указывается в инструкции по применению и паспорте на каждую серию набора.

7.3.8. После полного протекания раствора конъюгата в отверстие кассеты внести 4 капли отмывающего раствора.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Учёт результатов проводят визуально в течение 10 мин после окончания анализа.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА (рис. 1)

9.1. Исследуемый образец расценивается как положительно реагирующий, т.е. содержащий антитела к антигену *CagA Helicobacter pylori*, если в результате реакции в отверстии кассеты образовался знак «+».

9.2. Образец расценивается как отрицательно реагирующий, т.е. не содержащий антител к антигену *CagA Helicobacter pylori*, если в результате реакции в отверстии кассеты образовался знак «-».

9.3. Отсутствие в отверстии кассеты какого-либо знака указывает на ошибку при проведении анализа.

9.4. Допустимо возникновение бледно-розового фоновое окрашивания иммуносорбента.

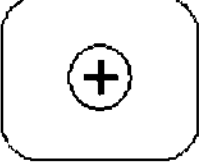
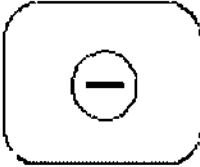
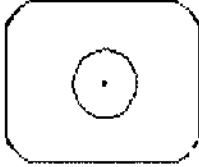
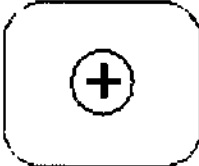
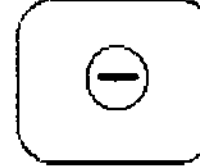
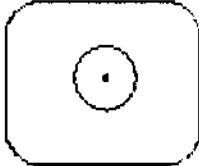
Знак в отверстии кассеты:		
		
или	или	или
		
Результат анализа:		
Положительный	Отрицательный	Ошибка

Рис. 1. Учет результатов анализа.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут. Замораживание не допускается.

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

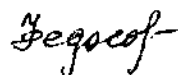
10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора обращаться:

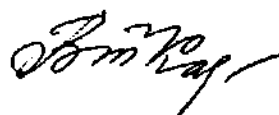
в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу: 630559, п. Кольцово, Новосибирской обл, Новосибирского района, а/я 121, тел. (383) 336-92-49, 227-60-30, 227-67-64, тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44, 336-73-46.

E:mail: vbobtk@vector-best.ru

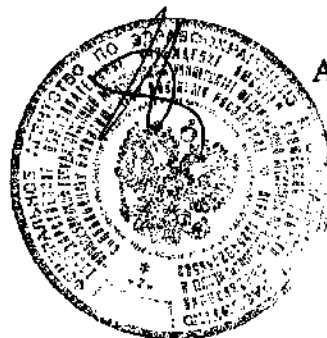
Начальник отделения
экспресс-диагностики
ЗАО «Вектор-Бест»

 Н.Ю. Федосова

Директор по производству
ЗАО «Вектор-Бест»

 В.К. Ткачев

Проректор по научной работе
ГОУ ВПО НГМУ Росздрава



А.В. Фидиркин





Принято,
принято и
списано на
список
М.П.