

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2010 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**набора реагентов для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis*
«*Trichomonas vaginalis* – IgA – ИФА – БЕСТ»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для выявления иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis* в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов. Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли (по 3 лунки используют для постановки контролей).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением антигена цитоадгезина *Trichomonas vaginalis*, который иммобилизован в лунках полистироловых планшетов. Во время первой инкубации происходит связывание специфических IgA к *Trichomonas vaginalis*, содержащихся в исследуемых образцах сывороток крови, с иммобилизованным на поверхности лунок стрипов антигеном *Trichomonas vaginalis*. На втором этапе антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена, связываются с комплексом «антиген-антитело».

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.

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и зав. лабораторией бактериальных инфекций С.А. Кротовым

Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis*.

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 антигеном *Trichomonas vaginalis* – 1 шт.;
 - положительный контрольный образец (K⁺), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса А к *Trichomonas vaginalis* – прозрачная жидкость красного цвета – 1 флакон (0,5 мл);
 - отрицательный контрольный образец (K⁻), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса А к *Trichomonas vaginalis* – прозрачная жидкость желтого цвета – 1 флакон (1,0 мл);
 - конъюгат – антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена, лиофилизированный – аморфная масса белого или желтого цвета – 1 флакон;
 - концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до температуры от 30 до 40 °С – 1 флакон (28 мл);
 - раствор для предварительного разведения (РПР) – прозрачная бесцветная жидкость – 1 флакон (3,0 мл);
 - раствор для разведения сывороток (РС) – прозрачная жидкость желто-красного цвета – 1 флакон (13 мл);
 - раствор для разведения конъюгата (РК) – прозрачная жидкость зелёного цвета – 1 флакон (13 мл);
 - раствор тетраметилбензидина (ТМБ) – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость – 1 флакон (13 мл);
 - стоп-реагент – 1 флакон (12 мл).
- Набор дополнительно комплектуется:
- пленкой 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. Чувствительность по IgA к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-329) 100 %.

3.2. Специфичность по IgA к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-329) 100 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 8 $^\circ\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ не более 5 суток, либо при температуре минус $(20 \pm 3) ^\circ\text{C}$, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать в течение 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 ИФА.

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5 %.

Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 мин до их использования.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 месяца. Флаконы с исходными компонентами после вскрытия плотно закрыть и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина.

При промывке лунки (стрипа, планшета) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через край лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 с.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.

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

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Посуду (ванночки), используемые для работы с растворами конъюгата и тетраметилбензидина, 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 (ван-

ночки) для раствора тетраметилбензидина сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов (МУ-231-113 от 29.10.98).

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. Промывочный раствор

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

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: до 72 ч при температуре от 2 до 8 °С.

7.2.2. 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 – до 1 месяца при температуре от 2 до 8 °С.

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

Тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения конъюгата (РК). Затем в ванночку для реагентов отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК, тщательно перемешать пипетированием.

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

7.2.3. Раствор ТМБ

Внимание! Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ. Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с раствором ТМБ.

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ

(см. таблицу). Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).

Хранение: в течение всего срока годности набора температуре от 2 до 8 °С.

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												
Концентрированный раствор конъюгата, мкл	α^*	$2 \times \alpha$	$3 \times \alpha$	$4 \times \alpha$	$5 \times \alpha$	$6 \times \alpha$	$7 \times \alpha$	$8 \times \alpha$	$9 \times \alpha$	$10 \times \alpha$	$11 \times \alpha$	$12 \times \alpha$
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

Примечание: * – количество концентрированного раствора конъюгата (α) в мкл указано в паспорте и инструкции на данную серию наборов.

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 застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 7.2.2).

Внимание! Концентрированный раствор конъюгата должен быть приготовлен, как минимум за 15 минут до постановки ИФА и выдержан при температуре от 18 до 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 мин 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 раствора для разведения сывороток (РС). В любые две лунки внести по 20 мкл отрицательного контрольного образца (К⁻), в

одну лунку – 20 мкл положительного контрольного образца (K^+), во все остальные лунки внести по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы), получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

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

За 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.2).

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

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

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

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

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

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

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

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

Стрипы поместить на 30 мин в защищенное от света место при температуре от 18 до 25 $^\circ\text{C}$.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (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 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.

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значение оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом не менее 0,60 ($ОП_{K^+} \geq 0,60$);

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,25 ($ОП_{срK^-} \leq 0,25$).

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

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}(K^-) + 0,35.$$

где $ОП_{ср}(K^-)$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Исследуемый образец оценить как:

– положительный, т.е. содержащий IgA к *Trichomonas vaginalis*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит}$;

– отрицательный, т.е. не содержащий IgA к *Trichomonas vaginalis*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,1$;

– сомнительный, если $ОП_{крит} - 0,1 < ОП_{обр} < ОП_{крит}$.

9.2. Интерпретация результатов:

Оптическая плотность сыворотки	Результат	Титр IgA
от 0 до ($ОП_{крит} - 0,1$)	отрицательный	—
от ($ОП_{крит} - 0,1$) до $ОП_{крит}$	сомнительный	—
от $ОП_{крит}$ до $3 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
от $3 \times ОП_{крит}$ до $5 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
от $5 \times ОП_{крит}$ до $7 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
от $7 \times ОП_{крит}$ до $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
более $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

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

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

Зав. лаборатории
бактериальных инфекций
ЗАО «Вектор-Бест»



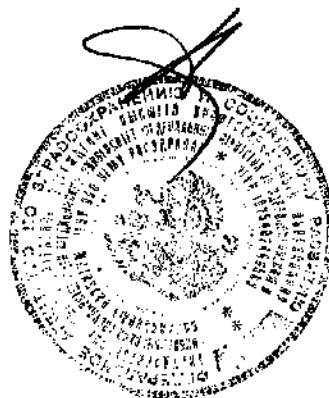
С.А. Кротов

Директор по производству
ЗАО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

Проректор по научной работе
ГОУ ВПО НГМУ Росздрава



А.В. Фидиркин



Препровождено, препрово-
жено и
сервисно митом
доставить местное

В.И.З.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

2340 «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2009 г.



**набора реагентов для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis*
«Trichomonas vaginalis – IgA – ИФА – БЕСТ»**

1.1. Набор предназначен для выявления иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis* в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов. Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли (по 3 лунки используют для постановки контролей).

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением антигена цитоадгезина *Trichomonas vaginalis*, который иммобилизован в лунках полистироловых планшетов. Во время первой инкубации происходит связывание специфических IgA к *Trichomonas vaginalis*, содержащихся в исследуемых образцах сывороток крови, с иммобилизованным на поверхности лунок стрипов антигеном *Trichomonas vaginalis*. На втором этапе антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена, связываются с комплексом «антиген-антитело».

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.

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и зав. лабораторией бактериальных инфекций С.А. Кротовым

Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis*.

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 антигеном *Trichomonas vaginalis* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K⁺), инаktivированный – на основе инаktivированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса А к *Trichomonas vaginalis* – прозрачная жидкость красного цвета – 1 флакон (0,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K⁻), инаktivированный – на основе инаktivированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса А к *Trichomonas vaginalis* – прозрачная жидкость желтого цвета – 1 флакон (1,0 мл);
- конъюгат – антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена, лиофилизированный – аморфная масса белого или желтого цвета – 1 флакон;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до температуры от 30 до 40 °С – 1 флакон (28 мл);
- раствор для предварительного разведения (РПР) – прозрачная бесцветная жидкость – 1 флакон (3,0 мл);
- раствор для разведения сывороток (РС) – прозрачная жидкость желто-красного цвета – 1 флакон (13 мл);
- раствор для разведения конъюгата (РК) – прозрачная жидкость зелёного цвета – 1 флакон (13 мл);
- раствор тетраметилбензидина (ТМБ) – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой 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. Чувствительность по IgA к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-329) 100 %.

3.2. Специфичность по IgA к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-329) 100 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

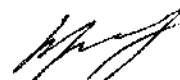
5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 8 $^\circ\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ не более 5 суток, либо при температуре минус $(20 \pm 3) ^\circ\text{C}$, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать в течение 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 ИФА.

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5 %.

Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 мин до их использования.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 месяца. Флаконы с исходными компонентами после вскрытия плотно закрыть и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина.

При промывке лунки (стрипа, планшета) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через край лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 с.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.

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

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Посуду (ванночки), используемые для работы с растворами конъюгата и тетраметилбензидина, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

В случае повторного использования посуду (ванночки) для раствора конъюгата промывать проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду (ван-

ночки) для раствора тетраметилбензидина сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов (МУ-231-113 от 29.10.98).

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. Промывочный раствор

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

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: до 72 ч при температуре от 2 до 8 °С.

7.2.2. 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 – до 1 месяца при температуре от 2 до 8 °С.

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

Тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения конъюгата (РК). Затем в ванночку для реагентов отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК, тщательно перемешать пипетированием.

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

7.2.3. Раствор ТМБ

Внимание! Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ. Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с раствором ТМБ.

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ

(см. таблицу). Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).

Хранение: в течение всего срока годности набора температуре от 2 до 8 °С.

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												
Концентрированный раствор конъюгата, мкл	α^*	$2 \times \alpha$	$3 \times \alpha$	$4 \times \alpha$	$5 \times \alpha$	$6 \times \alpha$	$7 \times \alpha$	$8 \times \alpha$	$9 \times \alpha$	$10 \times \alpha$	$11 \times \alpha$	$12 \times \alpha$
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

Примечание: * – количество концентрированного раствора конъюгата (α) в мкл указано в паспорте и инструкции на данную серию наборов.

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 застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 7.2.2).

Внимание! Концентрированный раствор конъюгата должен быть приготовлен, как минимум за 15 минут до постановки ИФА и выдержан при температуре от 18 до 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 мин 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 раствора для разведения сывороток (РС). В любые две лунки внести по 20 мкл отрицательного контрольного образца (К), в

одну лунку – 20 мкл положительного контрольного образца (K^+), во все остальные лунки внести по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы), получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

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

За 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.2).

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

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

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

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

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

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

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

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

Стрипы поместить на 30 мин в защищенное от света место при температуре от 18 до 25 $^\circ\text{C}$.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (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 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.

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значение оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом не менее 0,60 ($ОП_{K^+} \geq 0,60$);
- среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,25 ($ОП_{ср} K^- \leq 0,25$).

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

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}(K^-) + 0,35.$$

где $ОП_{ср}(K^-)$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Исследуемый образец оценить как:

- положительный, т.е. содержащий IgA к *Trichomonas vaginalis*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит}$;
- отрицательный, т.е. не содержащий IgA к *Trichomonas vaginalis*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,1$;
- сомнительный, если $ОП_{крит} - 0,1 < ОП_{обр} < ОП_{крит}$.

9.2. Интерпретация результатов:

Оптическая плотность сыворотки	Результат	Титр IgA
от 0 до ($ОП_{крит} - 0,1$)	отрицательный	–
от ($ОП_{крит} - 0,1$) до $ОП_{крит}$	сомнительный	–
от $ОП_{крит}$ до $3 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
от $3 \times ОП_{крит}$ до $5 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
от $5 \times ОП_{крит}$ до $7 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
от $7 \times ОП_{крит}$ до $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
более $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

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

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

Зав. лаборатории
бактериальных инфекций
ЗАО «Вектор-Бест»



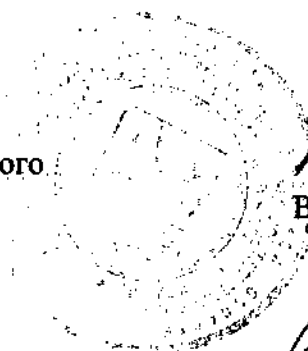
С.А. Кротов

Директор по производству
ЗАО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

Зам. директора по научной работе Московского
Областного Научно-исследовательского
Клинического Института им. М.Ф. Владимирского
(МОНИКИ)




В.И. Шумский





Принципиально, принципиально
и существенно не имеет
двух метров

пр/ф

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 201_ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для иммуноферментного выявления

иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis*

«*Trichomonas vaginalis* – IgA – ИФА – БЕСТ»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для выявления иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis* в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов. Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая коитроли (по 3 лунки используют для постановки коитролей).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением антигена цитoadгезина *Trichomonas vaginalis*, который иммобилизован в лунках полистироловых планшетов. Во время первой инкубации происходит связывание специфических IgA к *Trichomonas vaginalis*, содержащихся в исследуемых образцах сывороток крови, с иммобилизованным на поверхности лунок стрипов антигеном *Trichomonas vaginalis*. На втором этапе антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена, связываются с комплексом «антиген-антитело».

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.

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и зав. лабораторией бактериальных инфекций С.А. Кротовым

Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса А к *Trichomonas vaginalis*.

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

2.2. Состав набора:

- планшет разборный с иммобилизованным антигеном *Trichomonas vaginalis* – 1 шт.;
 - положительный контрольный образец (K^+), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса А к *Trichomonas vaginalis* – прозрачная жидкость красного цвета – 1 флакон (0,5 мл);
 - отрицательный контрольный образец (K^-), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса А к *Trichomonas vaginalis* – прозрачная жидкость желтого цвета – 1 флакон (1,0 мл);
 - конъюгат – антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена, лиофилизированный – аморфная масса белого или желтого цвета – 1 флакон;
 - концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до температуры от 30 до 40 °C – 1 флакон (28 мл);
 - раствор для предварительного разведения (РПР) – прозрачная бесцветная жидкость – 1 флакон (3,0 мл);
 - раствор для разведения сывороток (РС) – прозрачная жидкость желто-красного цвета – 1 флакон (13 мл);
 - раствор для разведения конъюгата (РК) – прозрачная жидкость зелёного цвета – 1 флакон (13 мл);
 - раствор тетраметилбензидина (ТМБ) – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость – 1 флакон (13 мл);
 - стоп-реагент – 1 флакон (12 мл).
- Набор дополнительно комплектуется:
- пленкой 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. Чувствительность по IgA к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-329) 100 %.

3.2. Специфичность по IgA к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия (СПП 05-2-329) 100 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 8 $^\circ\text{C}$;
- 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%);
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ не более 5 суток, либо при температуре минус $(20 \pm 3) ^\circ\text{C}$, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать в течение 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 ИФА.

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5 %.

Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 мин до их использования.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 месяца. Флаконы с исходными компонентами после вскрытия плотно закрыть и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина.

При промывке лунки (стрипа, планшета) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через край лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 с.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.

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

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Посуду (ванночки), используемые для работы с растворами конъюгата и тетраметилбензидина, 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 (ван-

ночки) для раствора тетраметилбензидина сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов (МУ-231-113 от 29.10.98).

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. Промывочный раствор

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

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: до 72 ч при температуре от 2 до 8 °С.

7.2.2. 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 – до 1 месяца при температуре от 2 до 8 °С.

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

Тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения конъюгата (РК). Затем в ванночку для реагентов отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК, тщательно перемешать пипетированием.

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

7.2.3. Раствор ТМБ

Внимание! Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ. Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с раствором ТМБ.

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ

(см. таблицу). Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).

Хранение: в течение всего срока годности набора температуре от 2 до 8 °С.

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												
Концентрированный раствор конъюгата, мкл	α^*	$2 \times \alpha$	$3 \times \alpha$	$4 \times \alpha$	$5 \times \alpha$	$6 \times \alpha$	$7 \times \alpha$	$8 \times \alpha$	$9 \times \alpha$	$10 \times \alpha$	$11 \times \alpha$	$12 \times \alpha$
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

Примечание: * – количество концентрированного раствора конъюгата (α) в мкл указано в паспорте и инструкции на данную серию наборов.

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 застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 7.2.2).

Внимание! Концентрированный раствор конъюгата должен быть приготовлен, как минимум за 15 минут до постановки ИФА и выдержан при температуре от 18 до 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 мин 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 раствора для разведения сывороток (РС). В любые две лунки внести по 20 мкл отрицательного контрольного образца (К⁻), в

одну лунку – 20 мкл положительного контрольного образца (K^+), во все остальные лунки внести по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы), получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

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

За 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.2).

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

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

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

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

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

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

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

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

Стрипы поместить на 30 мин в защищенное от света место при температуре от 18 до 25°C .

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (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 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.

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значение оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом не менее 0,60 ($ОП_{K^+} \geq 0,60$);
- среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,25 ($ОП_{cpK^-} \leq 0,25$).

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

$$ОП_{крит} = ОП_{cp}(K^-) + 0,35.$$

где $ОП_{cp}(K^-)$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Исследуемый образец оценить как:

- положительный, т.е. содержащий IgA к *Trichomonas vaginalis*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит}$;
- отрицательный, т.е. не содержащий IgA к *Trichomonas vaginalis*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,1$;
- сомнительный, если $ОП_{крит} - 0,1 < ОП_{обр} < ОП_{крит}$.

9.2. Интерпретация результатов:

Оптическая плотность сыворотки	Результат	Титр IgA
от 0 до ($ОП_{крит} - 0,1$)	отрицательный	–
от ($ОП_{крит} - 0,1$) до $ОП_{крит}$	сомнительный	–
от $ОП_{крит}$ до $3 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
от $3 \times ОП_{крит}$ до $5 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
от $5 \times ОП_{крит}$ до $7 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
от $7 \times ОП_{крит}$ до $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
более $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

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

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

Зав. лаборатории
бактериальных инфекций
ЗАО «Вектор-Бест»

С.А. Кротов

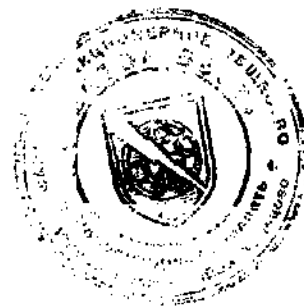
Директор по производству
ЗАО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Зам. директора по научной работе
ГУЗМ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского
профессор, д.м.н.



М.М. Абакумов



Принципировано, прикинуто
и сгруппировано пометы
девятки ментов