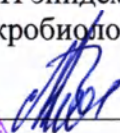


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН
НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера



 А.А. Тотолян
«16» мая 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к антигенам коксиилл Бернета» (ИФА-анти-Ку-G)

Настоящая инструкция содержит информацию, необходимую для правильного и безопасного применения Тест-системы ИФА-анти-Ку-G, представляющей из себя Набор реагентов, позволяющих проводить качественный иммуноферментный анализ сыворотки крови человека на наличие антител класса IgG к спектру антигенов коксиилл Бернета.

Набор реагентов разработан и произведен Федеральным бюджетным учреждением науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для серологической текущей и ретроспективной *in vitro* диагностики Ку-лихорадки (коксииллеза) по наличию антител IgG-класса в сыворотке крови человека с помощью качественного иммуноферментного анализа и осуществления государственного санитарно-эпидемиологического надзора за коксииллезом (Ку-лихорадкой). Кроме того, Набор реагентов может быть применен для осуществления мероприятий по контролю и профилактике внебольничных пневмоний (СП 3.1.2.3116-13 «Профилактика внебольничных пневмоний» и МУ 3.1.2.3047-13 «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями») для исключения лихорадки Ку.

Потенциальными потребителями набора реагентов являются специалисты учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (центры гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации, противочумные учреждения, научные организации, санитарно-эпидемиологические службы министерств и ведомств), а также специалисты медицинских учреждений, имеющие специальность врача клинической лабораторной диагностики или биолога согласно требованиям Приказов Минздравсоцразвития №415н от 7.07.2009 г. и №541н от 23.07.2010 г.

Целевым анализом, выявляемым Набором реагентов, являются сывороточные антитела класса IgG к антигенам *Coxiella burnetii*, присутствие которых в сыворотке свидетельствует об инфицированности исследуемого человека возбудителем лихорадки

Ку и при наличии клинико-эпидемиологических данных позволяет диагностировать лихорадку Ку (раздел 4.4 Санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.7.2811-10 «Профилактика коксиеллеза (Лихорадка Ку)»). IgG-антитела к коксиеллам Бернета могут сохраняться в течение длительного времени после перенесения заболевания, поэтому их обнаружение при стертой клинической картине является основанием для повторного исследования через 10-12 дней. Четырехкратное увеличение титра коксиеллезных антител в «парных сыворотках» указывает на текущую инфекцию, а отсутствие изменения титра антител свидетельствует о перенесенном заболевании в прошлом.

Набор реагентов не относится к средствам измерения медицинского назначения, регламентируемым Приказом Минздрава РФ №81н от 21.02.2014 г.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Принцип действия

В основе метода иммуноферментного анализа лежит принцип взаимодействия между антигенами и сывороточными антителами. Выявление антител осуществляется посредством их взаимодействия с сорбированными на полистироловых планшетах антигенами *Coxiella burnetii*. Визуализацию комплексов антиген-антитело производят с помощью конъюгата, представляющего собой моноклональные IgG-антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена, после добавления хромофорного субстрата - тетраметилбензидина.

2.2 Состав набора

Набор рассчитан на исследование 93 образцов сывороток крови в варианте скрининга, включая контроли (табл. 1).

Таблица 1 - Состав набора.

Наименование реагента	Описание	Количество в наборе
Сыворотка крови, содержащая IgG-антитела к коксиеллам Бернета (K+)	Прозрачная жидкость красного цвета	1,2 мл – 1 пр.
Сыворотка крови, не содержащая IgG-антитела к коксиеллам Бернета (K-)	Прозрачная жидкость зелёного цвета	1,2 мл – 1 пр.
Концентрат моноклональных антител к IgG человека, меченных пероксидазой хрена (концентрат конъюгата)	Прозрачная жидкость синего цвета	0,6 мл – 1 пр.
Фосфатно-солевой буферный раствор с твином (ФСРТ, концентрат)	Прозрачная бесцветная жидкость	20 мл – 1 фл.
Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБП)	Прозрачная бесцветная жидкость	10 мл – 1 фл.
Раствор для разведения конъюгата (РПК)	Прозрачная бесцветная жидкость	11 мл – 1 фл.
Раствор для разведения исследуемых проб (РИП)	Прозрачная жидкость сине-фиолетового цвета	10 мл – 1 фл.
Раствор тетраметилбензидина	Прозрачная жидкость слегка	2,5 мл – 1 фл.

(ТМБ)	голубоватого цвета	
Раствор серной кислоты (Стоп-реагент)	Прозрачная бесцветная жидкость	5 мл – 1 фл.
Иммуносорбент	96-луночный планшет, цельный или разборный с прозрачными лунками, с иммобилизованными антигенами кокснелл Бернета	1 шт.
Хлорид натрия	Кристаллы белого цвета	10 г – 1 уп.

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 pH растворов

- Фосфатно-солевой буферный раствор с твином: 7,2 – 7,6;
- Цитратный буферный раствор с перекисью водорода: 5,0 – 5,5;
- Раствор для разведения конъюгата: 7,2 – 7,4;
- Раствор тетраметилбензида: 3,3 – 3,5;
- Раствор для разведения исследуемых проб: 7,2 – 7,4.

3.2 Специфическая функциональная характеристика

Тест-система должна давать положительную реакцию с К+ и не должна реагировать с К-. Среднее значение оптической плотности (ОПср), которую дает контрольная положительная сыворотка (ОПср К+) $\geq 0,70$ о.е. при длине волны 450 нм, среднее значение ОП, которую дает контрольная отрицательная сыворотка (ОПср К-) $\leq 0,10$ о.е. при длине волны 450 нм.

Если отношение ОПср исследуемой сыворотки к ОПср К- ≥ 3 и при этом ОПср исследуемой сыворотки имеет значение выше 0,50 о.е., то этот результат следует оценивать как положительный, и сыворотка содержит антитела класса IgG к антигену кокснелл Бернета.

Если отношение ОПср исследуемой сыворотки к ОПср К- < 3 или ОПср исследуемой сыворотки $\leq 0,50$, то этот результат следует оценивать как отрицательный, и сыворотка не содержит антител класса IgG к антигену кокснелл Бернета.

3.3 Аналитическая чувствительность (порог чувствительности)

Порог чувствительности Тест-системы соответствует значению ОП исследуемой сыворотки, равному 0,50 о.е. при значении ОПср К+ не менее 0,70 о.е. при длине волны 450 нм, что соответствует диагностическому титру кокснеллезных антител (1:10), выявляемых в реакции связывания комплемента (РСК).

3.4 Воспроизводимость (точность)

Воспроизводимость результатов, полученных с помощью Тест-системы, оценивается по коэффициенту вариации CV и рассчитывается по формуле: $CV (\%) = (S/M) \times 100$, где М – среднее арифметическое значение ОП К+, S – стандартное отклонение.

Внутрисерийная воспроизводимость результатов составляет 3,9 %.

Межсерийная воспроизводимость результатов между сериями составляет 4,2 %.

Межлабораторная воспроизводимость результатов исследования двух независимых лабораторий составляет 4,4 %.

3.5 Аналитическая специфичность

Coxiella burnetii является единственным патогеном, входящим в состав рода *Coxiella*, принадлежащего к семейству *Coxiellaceae*, относящегося к классу *Gamma-proteobacteria*. По антигенным свойствам *C. burnetii* существенно отличаются от других микроорганизмов. Они не имеют перекрестных антигенов с другими риккетсиями и *Proteus vulgaris*. Поэтому антитела класса IgG, образующиеся в организме человека через две недели после заражения коксиеллами, высоко специфичны.

Возможные неспецифические реакции сывороточных IgG-антител, способных интерферировать с коксиеллезными антителами и давать ложноположительные результаты, отсекаются вследствие разведения исследуемых сывороток в 400 раз. Кроме того, неспецифическое связывание сывороточного IgG с поверхностью ячеек стрипов иммуносорбента исключено с помощью специальных блокирующих агентов. Возможное интерферирующее следовых количеств гемоглобина, липопротеидов и триглицеридов отсутствует при разведении анализируемой сыворотки в 400 раз.

Коксиеллезные антигены, сорбированные на планшете, обеспечивают аналитическую специфичность тест-системы, выражающуюся в способности выявлять в сыворотке крови наличие антител только к *Coxiella burnetii* и не выявлять антитела к близкородственным возбудителям риккетсиозов: *R. prowazekii*, *R. typhi* и *R. sibirica*.

3.6 Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность, определяемая как отношение количества истинно положительных результатов к сумме истинно положительных и ложноотрицательных результатов, составляет не менее 90 % при доверительной вероятности 95 %.

3.7 Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность, определяемая как отношение количества истинно отрицательных результатов к сумме истинно отрицательных и ложноположительных результатов, составляет не менее 90 % при доверительной вероятности 95 %.

4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ, МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

4.1 Потенциальный риск применения

По степени потенциального риска применения Набор реагентов относится к классу 26 (п. 9.61 Приказа МЗ РФ № 4н от 06.06.2012).

4.2 Прямой риск применения

Набор реагентов содержит сыворотки крови человека в качестве отрицательного (К-) и положительного (К+) контролей, которые не представляют биологической опасности поскольку в ходе производства Набора реагентов протестированы на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С, а также к HBsAg, служащих маркерами опасных вирусных заболеваний. Однако исследуемые сыворотки, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, обращаться с которым следует, соблюдая технику безопасности согласно ГОСТ Р 52905-2007.

4.3 Косвенный риск применения

Косвенный риск применения Набора реагентов связан с вероятностью получения ложноотрицательных результатов, что может привести к ошибочному медицинскому решению и отрицательно повлиять на тактику терапевтических и противоэпидемических мероприятий в отношении Ку-лихорадки. Причинами таких ложноотрицательных результатов могут быть: 1) порча отдельных компонентов Набора реагентов в результате

несоблюдения условий его транспортировки и хранения до использования, 2) превышение гарантийных сроков хранения, указанных на этикетках, 3) несоблюдение требований инструкции по применению в ходе проведения анализа.

Для нивелирования прямого и косвенного рисков применения Набора реагентов при проведении анализа необходимо строго соблюдать требования «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.), СанПиН 2.1.7.2790 –10, СП 1.3.2322-08, ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003), а также «Инструкции по применению Набора реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к антигенам коксииелл Бернета» (ИФА-анти-Ку-G).

4.4 Требования к помещению

4.4.1 Постановку ИФА следует проводить в помещении с комнатной температурой от 16 до 26 °С.

4.4.2 Работа с Набором должна проводиться в лаборатории, выполняющей микробиологические, серологические и диагностические исследования с соблюдением санитарно-эпидемических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и методических указаний МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.4.3 В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.

4.5 Общие требования к работе с Набором реагентов

4.5.1 Перед началом работы следует ознакомиться с инструкцией по применению.

4.5.2 Нельзя изменять процедуру проведения анализа.

4.5.3 Не допускается использование Набора реагентов после истечения его срока годности, указанного на упаковке.

4.5.4 При работе с Набором следует использовать одноразовые стерильные неопудренные резиновые перчатки, разрешенные к применению на территории РФ.

4.5.5 Все компоненты Набора реагентов перед началом работы необходимо выдерживать при комнатной температуре в течение 30 мин.

4.5.6 Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.

4.5.7 Необходимо использовать только валидированные дозаторы и оборудование.

4.5.8 Все работы по пипетированию должны выполняться только с использованием одноразовых наконечников с фильтром для полуавтоматических пипеток.

4.5.9 Все использованные одноразовые материалы и остатки образцов должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с требованиями 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».

4.5.10 Не допускать контакта образцов Набора с глазами и слизистой оболочкой. При контакте обильно промыть участок контакта водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

4.5.11 Во избежание деградации нанесенного биоматериала при работе с компонентами Набора следует избегать воздействия высоких температур, влаги и прямого солнечного света.

5. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- дозаторы пипеточные 1-канальные с переменным объемом от 5 до 50 мкл, от 20 до 200 мкл и от 200 до 1000 мкл;
- дозаторы пипеточные 8-канальные с переменным объемом от 5 до 50 мкл и от 50 до 200 мкл;
- наконечники полипропиленовые на 5-200 мкл и 200-1000 мкл;
- планшет плоскодонный для иммуноферментного анализа однократного применения;
- спектрофотометр вертикальный для ИФА с длинами волн 450 нм и референс-фильтром 630 нм;
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследуемые образцы сыворотки крови хранят при температуре от 2 до 8 °С не более 3 суток от момента взятия крови. Допускается хранение сыворотки в замороженном состоянии при температуре не выше минус 18 °С не более 1 года. Перед использованием образцы размораживают при температуре от 16 до 25 °С и перемешивают встряхиванием. Образцы проб сывороток, содержащие агрегаты и осадок, необходимо осветлять центрифугированием 10 мин при 6000 об/мин. Не допускается использование исследуемого материала, прошедшего термообработку, консервированного азидом натрия, с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным проростом в виду возможной интерференции гемоглобина, липидов и бактериальных продуктов с косиеллезными антителами, что может привести к ложноположительным результатам. Обязательным условием является разбавление анализируемой сыворотки перед использованием в 400 раз, что гарантирует нивелирование действия возможных интерферентов, присутствующих в следовых количествах.

Повторное замораживание сыворотки не допускается.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Подготовка сывороток

Провести предварительное разведение (1:20), смешав 5 мкл исследуемой сыворотки с 95 мкл РИП (разведение – 1:20). Для этого используют дополнительный 96-луночный

планшет. В случае необходимости титрования сывороток разводить их раствором РИП с шагом 2. Разведённые сыворотки хранению не подлежат.

7.2 Подготовка раствора ФСРТ

Для получения рабочего раствора ФСРТ содержимое флакона с концентратом ФСРТ перенести в мерную колбу ёмкостью 500 мл и довести объём до метки дистиллированной водой. Перелить содержимое колбы в стакан, добавить содержимое пакета с хлоридом натрия и перемешивать до полного растворения последнего. Полученный раствор следует хранить не более 5 суток при температуре от 16 до 25 °С и не более 30 суток при температуре от 2 до 8 °С.

7.3 Подготовка раствора конъюгата

Концентрат конъюгата развести на растворе РПК 1:20. Необходимый объём раствора конъюгата определяется числом используемых стрипов (см. табл. 2). Полученный раствор следует хранить не более 4 ч при температуре 4-6 °С.

7.4 Подготовка субстратного раствора

В зависимости от количества используемых стрипов готовят необходимый объём субстратного раствора путем смешивания соответствующих объемов реагента ТМБ и ЦБП перед проведением ферментативной реакции. Полученный субстратный раствор должен оставаться бесцветным или слегка голубоватым. Необходимый объём раствора субстрата определяется числом используемых стрипов (табл. 2). Полученный субстратный раствор хранению не подлежит.

Таблица 2 - Расход компонентов тест-системы.

Количество стрипов	Концентрат конъюгата (мл)	РПК (мл)	ТМБ (мл)	ЦБП (мл)
1	0,05	0,95	0,05	0,95
2	0,10	1,90	0,10	1,90
3	0,13	2,47	0,13	2,47
4	0,17	3,23	0,17	3,23
5	0,21	3,99	0,21	3,99
6	0,25	4,75	0,25	4,75
7	0,29	5,51	0,29	5,51
8	0,33	6,27	0,33	6,27
9	0,37	7,03	0,37	7,03
10	0,44	8,37	0,44	8,37
11	0,46	8,74	0,46	8,74
12	0,50	9,50	0,50	9,50

7.5 Проведение иммуноферментного анализа

7.5.1 Регидратация сорбированного Ку-антигена. Перед использованием иммуносорбент промыть раствором ФСРТ: в лунки внести по 250 мкл раствора ФСРТ и выдержать в течение 5 мин при температуре 20±2 °С. Затем раствор из лунок удалить с помощью автоматического промывателя (вошера) или вытряхнуть.

7.5.2 Одну из лунок (A1) оставить незаполненной в качестве контроля субстрата, другую (B1) оставить незаполненной для контроля конъюгата, в две лунки (A2 и B2) внести по 100 мкл раствора K+, в две другие (A3 и B3) – по 100 мкл раствора K-. В остальные лунки внести по 95 мкл раствора ФСРТ и по 5 мкл предварительно разведённой в РИП в 20 раз исследуемой сыворотки. Таким образом, исследуемая сыворотка в лунке разбавляется, в конечном счёте, в 400 раз. Планшет закрыть крышкой и выдержать во влажной камере при температуре 37 ± 1 °C в течение 1 ч. После инкубации содержимое лунок удалить автоматическим отсасывателем в сосуд, заполненный до половины 6% раствором перекиси водорода, затем лунки промыть, внося в каждую не менее 250 мкл раствора ФСРТ и удаляя раствор автоматическим отсасывателем. Промывать 3 раза. После последней промывки удалить остаточную влагу постукиванием перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.5.3 Связывание конъюгата. Во все лунки, за исключением A1, внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Планшет закрыть крышкой или поместить во влажный полиэтиленовый пакет и инкубировать при температуре 37 ± 1 °C в течение 1 ч во влажной камере. Затем содержимое лунок удалить автоматическим отсасывателем и промыть 5 раз, как указано в п. 7.5.2.

7.5.4 Проведение ферментативной реакции. Перед проведением ферментативной реакции планшет промыть дистиллированной водой для удаления остатков ФСРТ. Для этого во все лунки внести по 250 мкл дистиллированной воды и выдержать 5 мин при температуре 20 ± 2 °C, затем воду удалить автоматическим отсасывателем. Во все лунки планшета внести по 100 мкл субстратного раствора. Планшет поместить в защищенное от света место и выдержать 20 ± 2 мин при $15-25$ °C.

7.5.5 Остановка ферментативной реакции. Во все лунки внести по 50 мкл Стоп-реагента.

8. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1 Учет результатов анализа проводить спектрофотометрическим методом не позднее, чем через 30 мин после внесения Стоп-реагента при длине волны 450 нм с помощью анализатора иммуноферментного ИФА-ОЭП-001 (г. Москва) или аналогичного ему. При проведении измерений осуществить установку «нулевого» уровня ОП по лунке A1 («бланк») с контролем субстратного раствора, вводя на приборе автоматический режим вычитания ОП A1 из значений ОП во всех остальных лунках. Результат учитывается, если значение ОП в лунках с K- не превышает 0,10 оптических единиц (о.е.), а значение ОП в лунках с K+ не менее 0,70 о.е.

Оценка результатов производится следующим образом. Если отношение среднего значения ОП (ОП_{ср}) исследуемой сыворотки к ОП_{ср} K- ≥ 3 и при этом ОП_{ср} исследуемой сыворотки имеет значение выше 0,50 о.е., то этот результат следует оценивать как положительный и сыворотка содержит антитела класса IgG к антигену коксиелл Бернета. Если отношение ОП_{ср} исследуемой сыворотки к ОП_{ср} K- меньше 3 или ОП_{ср} исследуемой сыворотки $\leq 0,50$ о.е., то этот результат следует оценивать как отрицательный и сыворотка не содержит антител класса IgG к антигену коксиелл Бернета.

Индекс 3 установлен эмпирически. Значение 0,5 о.е. соответствует пороговому значению содержания коксиеллезных антител в диагностическом титре 1:10, определяемом в реакции связывания комплемента (РСК), которая рекомендована в Методических рекомендациях «Серологические методы диагностики риккетсиозов», М., 1988, утвержденных Управлением карантинных инфекций МЗ СССР 8.12.1987 за № 28-6/39 и в Методических рекомендациях «Эпидемиологический надзор за лихорадкой Ку»,

Омск, 1997. Это означает, что сыворотка крови, содержащая коксиеллезные антитела в титре 1:10, определяемом в РСК, показывает значение более или равное ОП 0,5 о.е. при разведении в 400 раз и считается положительной.

8.2 Положительный результат ИФА, то есть выявление антител к *C.burnetii*, может свидетельствовать как о текущем заболевании Ку-лихорадкой, так и об инфицированности (или иммунизации) *C.burnetii* в прошлом.

8.3 Для дифференциации положительных результатов ИФА анамнестического характера от текущего заболевания, следует сравнить титры сывороточных антител к коксиеллезным антигенам в динамике болезни с интервалом 10 – 12 дней в ранний период её клинических проявлений.

8.3 Титром антител считают наибольшее разведение сыворотки, при котором результаты ИФА оцениваются как положительные. При этом показания оптической плотности при анализе исследуемой сыворотки должны превышать показания К- в 3 раза. Нарастание титров в 4 и более раз подтверждает наличие текущей коксиеллезной инфекции. В случае отсутствия возможности исследования парных сывороток, обнаружение коксиеллезных антител при значительных разведениях сыворотки (1:3200 и выше) может свидетельствовать в пользу недавно перенесённой Ку-лихорадки.

8.4 Для постановки окончательного диагноза Ку-лихорадки необходим комплекс серологических, клинических и эпидемиологических данных.

9. ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ

9.1 Исследуемая кровь, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, поэтому обращаться с ними следует, соблюдая технику безопасности. Следует избегать любого контакта компонентов со слизистыми оболочками тела.

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

9.3 При работе с компонентами Набора реагентов необходимо обращать внимание на тщательность перемешивания реагентов, постоянно контролировать точность дозировки и следить за рабочим состоянием пипеток.

9.4 Образцы сывороток, содержащие агрегаты и осадок, необходимо осветлять центрифугированием в течение 10 мин при 6000 об/мин. Не допускается использование исследуемого материала, прошедшего термообработку, консервированного азидом натрия, с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным проростом.

9.5 При работе нельзя допускать подсыхания лунок во время их промывки, избегать попадания прямых солнечных лучей на используемые компоненты.

9.6. Все реагенты набора предназначены для выявления антител класса IgG к антигенам коксиелл Бернета в сыворотке крови человека. Набор не предназначен для определения антител в слюне, плазме и других образцах человеческого или животного происхождения.

9.7 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры теста могут повлиять на результаты.

9.8 Набор не предназначен для тестирования образцов сывороток крови новорожденных.

10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

10.1 Технические характеристики

- определение pH проводят потенциометрически портативным pH-метром (Hanna HI8314) согласно ГОСТ 4919.2-77;
- фосфатно-солевой буферный раствор с твином, pH 7,2 – 7,6;
- цитратный буферный раствор с перекисью водорода, pH 5,0 – 5,5;
- раствор для разведения конъюгата, pH 7,2 – 7,4;
- раствор тетраметилбензидина, pH 3,3 – 3,5;
- раствор для разведения исследуемых проб, pH 7,2 – 7,4.

10.2 Специфическая активность

10.2.1 Тест-система должна давать положительную реакцию с K⁺ и не должна реагировать с K⁻. Среднее значение контрольной положительной сыворотки ОПсрK⁺ $\geq 0,70$ о.е. при длине волны 450 нм (ОП), значение ОП контрольной отрицательной сыворотки ОПсрK⁻ $\leq 0,10$ о.е. при длине волны 450 нм.

10.2.2 Если отношение среднего значения ОП (ОПср) исследуемой сыворотки к ОПсрK⁻ ≥ 3 и при этом ОПср исследуемой сыворотки имеет значение выше 0,50 о.е., то этот результат следует оценивать как положительный и сыворотки содержат антитела класса IgG к антигену коксиелл Бернета.

10.2.3 Если отношение ОПср исследуемой сыворотки к ОПср K⁻ меньше 3 или ОПср исследованной сыворотки $\leq 0,50$ о.е., то этот результат следует оценивать как отрицательный, и сыворотки не содержат антител класса IgG к антигену коксиелл Бернета.

10.2.4 Внешний вид компонентов набора контролируют визуально:

- сыворотка крови, содержащая IgG антитела к коксиеллам Бернета (K⁺) прозрачная, жидкость красного цвета;
- сыворотка крови, не содержащая IgG антител к коксиеллам Бернета (K⁻) прозрачная, жидкость зелёного цвета;
- концентрат моноклональных антител к IgG человека, меченных пероксидазой хрена (концентрат конъюгата) прозрачный, жидкость синего цвета;
- фосфатно-солевой буферный раствор с твином (ФСРТ, концентрат) прозрачный, жидкость бесцветная;
- цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБП) прозрачный, жидкость бесцветная;
- раствор тетраметилбензидина (ТМБ) прозрачный, жидкость слегка голубоватого цвета;
- раствор для разведения исследуемых проб (РИП) прозрачный, жидкость сине-фиолетового цвета;
- раствор для разведения конъюгата (РПК) прозрачный, жидкость бесцветная;
- раствор серной кислоты (Стоп-реагент), прозрачный, жидкость бесцветная.

11. УТИЛИЗАЦИЯ

Отходы, образующиеся после использования набора реагентов, относятся к классу Б, и утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 с помощью специализированных организаций.

После завершения работы исследуемые образцы сыворотки крови, находившиеся с ними в контакте реагенты и инструменты дезинфицируют растворами 6 % перекиси водорода, 70% этилового спирта или 3 % хлорамина Б в соответствии с СП 1.3.2322-08.

После обеззараживания инструменты не одноразового использования подвергают мойке (в зависимости от типа материала). Инструменты и материалы для одноразового использования собираются в одноразовую упаковку (в зависимости от морфологического состава отходов) желтого цвета или имеющие желтую маркировку. При окончательной упаковке отходов для удаления их из подразделения (организации) одноразовые емкости (пакеты, баки) с отходами маркируются соответствующим образом.

Далее емкости перемещают на участок по обращению с отходами или в помещение для временного хранения медицинских отходов класса Б до последующего вывоза транспортом специализированных организаций к месту обеззараживания/обезвреживания.

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

12.1 Хранение

Набор ИФА-анти-Ку-Г следует хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Допускается кратковременное (до 10 суток) хранение и транспортирование набора реагентов при температуре до 25 °С.

В случае дробного использования (независимо от кратности) после вскрытия первичной упаковки компоненты Набора необходимо хранить следующим образом:

- неиспользованные стрипы иммуносорбента можно хранить в тщательно герметизированном полиэтиленовом пакете типа «зип-лок» в течение всего срока годности набора при температуре 2 – 8 °С;

- концентрат ФСРТ после вскрытия флакона можно хранить во флаконе с плотно закрытой винтовой крышкой в течение всего срока годности набора при температуре 2 – 8 °С, рабочий раствор ФСРТ можно хранить в течение всего срока годности набора при температуре 2 – 8 °С;

- концентрат конъюгата после вскрытия можно хранить в плотно закрытой пробирке в течение всего срока годности набора при температуре 2 – 8 °С, рабочий раствор концентрата конъюгата в РРК можно хранить не более 4 ч при температуре 2 – 8 °С;

- растворы ЦБП, РРК и ТМБ после вскрытия флаконов можно хранить во флаконах с плотно закрытыми винтовыми крышками в течение всего срока годности набора при температуре 2 – 8 °С, субстратный раствор (ЦБП + ТМБ) хранению не подлежит;

- остальные растворы - К+, К-, Стоп-реагент, РИП - можно хранить в течение всего срока годности набора при температуре 2 – 8 °С.

При необходимости возможно использование компонентов ЦБП, ТМБ, РРК, РИП, Стоп-реагент из других серий Набора реагентов.

12.2 Требования к анализируемым образцам

Исследуемые образцы сыворотки крови хранят при температуре от 2 до 8 °С не более 3-х суток от момента взятия крови. Допускается хранение сыворотки в замороженном состоянии при температуре не выше минус 18 °С не более 1 года. Перед использованием образцы размораживают при температуре от 16 до 25 °С и перемешивают встряхиванием.

Образцы проб сывороток, содержащие агрегаты и осадок, необходимо осветлять центрифугированием 10 мин при 6000 об/мин. Не допускается использование

исследуемого материала, прошедшего термообработку, консервированного азидом натрия, с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным проростом.

12.3 Срок годности набора реагентов

Гарантийный срок годности составляет 6 месяцев с даты утверждения ОБТК и указан на этикетке набора реагентов. По истечению срока годности набор реагентов использованию не подлежит.

13. РЕКЛАМАЦИИ

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к антигенам коксиелл Бернета» (ИФА-анти-Ку-Г), следует обращаться к предприятию-изготовителю Федеральное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (ФБУН НИИЭМ имени Пастера) по адресу: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, тел/факс: (812) 233 17 03, телефон: (812) 325 27 10, e-mail: pasteurdnt@yandex.ru, <http://www.dntpasteur.ru>.

12 на (двем одъзати) листах

Подпись

[Signature]

А.А.Тотолян

Херинг В.Т.

«16»

Могла

20 ⁰19 г. МП

