

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«24» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Набор реагентов для определения ротавируса
(RIDA® QUICK Rotavirus)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)**

RIDA® QUICK Rotavirus

Иммунохроматографический экспресс-тест для качественного определения ротавируса в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Экспресс-тест предназначен для быстрого обнаружения ротавируса в образцах кала человека с целью дифференциальной диагностики инфекционного гастроэнтерита.

2. ВВЕДЕНИЕ

Ротавирусы – наиболее важная причина возникновения небактериального гастроэнтерита у детей в возрасте от 6 месяцев до 3 лет, заболевание также встречается у детей старшего возраста и у взрослых. Гастроэнтерит, вызываемый ротавирусами, может приводить к смертельному исходу в группах риска, которые составляют маленькие дети, пожилые люди и пациенты с нарушениями иммунной системы.

В странах с умеренным климатом ротавирусные инфекции встречаются в основном в зимнее время. Описаны эндемические заболевания, а также эпидемии, число заболевших во время которых достигает несколько тысяч человек. Процент детей, госпитализированных с острой формой энтерита, у которых анализы на ротавирус были положительными, достигает 50%. Ротавирусы передаются орально-фекальным путем, поэтому они являются опасным источником вспышек внутрибольничных заболеваний, развитие которых трудно контролировать. В связи с этим для обнаружения ротавирусов и для контроля за вспышками заболевания важна ранняя и надежная диагностика.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Rotavirus является одностадийным иммунохроматографическим тестом, включающим специфичные к ротавирусам антитела, связанные с окрашенными латексными частицами, и специфичные антитела к патогену, фиксированные на мембране. **МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ**

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Cassette	Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)	20 шт.
Diluent	Буфер для экстракции , содержит 0,1% азид натрия; готов к использованию	26 мл
Pipet	Одноразовые пипетки (в упаковке)	25 шт.
Инструкция по применению		

4. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется.

5. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для суспензии образцов кала
- Вортекс (дополнительно)
- Пипетка на 200 -1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

Только для диагностики *in vitro*.

- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавить при 121°C не менее 1 часа.

7. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения (свыше трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить и прогреть до комнатной температуры. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов. При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 50 мг).

8. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

9.1 Общие замечания

Перед проведением анализа реагенты и тест-кассеты необходимо выдержать некоторое время при комнатной температуре (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлекать из упаковки только непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа. Не выливайте реагенты обратно во флаконы во избежание контаминации.

9.2 Подготовка образцов

Внесите 1 мл буфера для экстракции **Diluent** в подходящую маркированную пробирку.

Наберите в одноразовую пипетку **Pipet** 100 мкл жидкого кала (до второго утолщения пипетки) и суспендируйте его в буфере для экстракции. Если кал твердый, отберите эквивалентное количество (объем величиной с горошину около 50 мг) с помощью шпателя. Гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его из пипетки или тщательно перемешивая на Вортексе, чтобы добиться хорошего диспергирования образца. Оставьте суспензию по крайней мере на 3 мин, пока частицы не осядут, а супернатант не станет прозрачным. (Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

9.3 Тестирование образца

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли (или 200 мкл) супернатанта суспензии образца в круглое окошко у нижнего края тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью в окошко не попадали твердые частицы. В случае если проба не впитывается из-за попадания в окошко твердых частиц, не вносите образец до тех пор, пока не увидите, что жидкость проходит через реакционную зону. Через 5 минут проведите учет результатов.

9. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;

- не контаминирован ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

10. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

После проведения теста должны появиться максимум две полосы: одна тестовая полоса (красная) и одна контрольная полоса (синяя). Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В окошке кассеты появляется только **СИНЯЯ** контрольная полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В дополнение к синей контрольной полосе появляется **КРАСНАЯ** тестовая полоса.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Ни одной полосы не наблюдается или наблюдается появление других, отличных от вышеописанных, комбинаций цветовых полос. Любые окрашенные линии, которые появляются позже, чем через 10 мин, не имеют диагностического значения.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Rotavirus предназначен для определения антигенов ротавирусов в образцах кала. Зависимости между интенсивностью окрашивания полос и выраженностью клинической картины не существует. Результаты анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с данными клинического обследования.

Положительные результаты данного теста не исключают присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия ротавирусной инфекции. Это объясняется пульсирующим характером экскреции вируса. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

Избыток используемого образца может стать причиной появления темных полос вместо ожидаемых специфически окрашенных. Эти полосы не имеют диагностического значения. В таких случаях необходимо повторить тест с меньшим количеством образца или сделать разведение супернатанта ранее приготовленной суспензии; процедуру анализа проводят по той же схеме согласно настоящей инструкции.

12. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность набора тестировали, используя клинические образцы, в сравнении с коммерчески доступным ИФА-набором. Результаты приведены в таблице:

Rotavirus	RIDA® QUICK	
ИФА	+	-
+	105	0
-	1	95

Чувствительность: 100,0%

Специфичность: 99,0%

Прогнозируемые положительные значения: 99,1%

Прогнозируемые отрицательные значения: 100,0%

Экспресс-тест RIDA® QUICK Rotavirus вместе с другими коммерчески доступными экспресс-тестами сравнивался с методом ПЦР. Тестируемые образцы были отобраны из панели мультицентрового исследования, состоящей из образцов, полученных у детей возрастом до четырех лет с симптомами гастроэнтерита, лечившихся как в стационаре, так и амбулаторно. Результаты приведены в таблице 2.

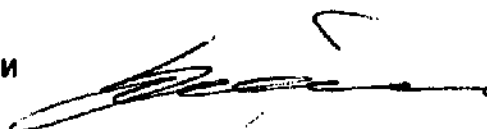
		RIDA® QUICK Rotavirus		Coris Bioconcept Rota-Stick	
		+	-	+	-
ПЦР	+	46	0	45	1
	-	3	51	1	53
Чувствительность		100,0 %		97,8 %	
Специфичность		94,4 %		98,1 %	
Прогнозируемое положительное значение		93,9 %		97,8 %	
Прогнозируемое отрицательное значение		100,0 %		98,1 %	
Точность		97,0 %		98,0 %	

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

Всего пронумеровано,
прошнуровано и скреплено
печатью 2 листов.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«21» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для определения ротавируса и аденовируса
(RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi

Экспресс-тест для качественного определения аденовируса и/или ротавируса в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест предназначен для быстрого выявления аденовируса и/или ротавируса в образцах кала человека. Только для диагностики *in vitro*.

2. ВВЕДЕНИЕ

Аденовирусы были открыты в 1953 г. Rowe et al. в аденоидной ткани. Этиологическая роль аденовирусов в острых респираторных заболеваниях была признана вскоре после их открытия. Аденовирусы могут вызывать фарингит, фарингоконъюнктивальную лихорадку, бронхит и пневмонию. Приблизительно 5 % случаев острых респираторных заболеваний у детей младше 5 лет ассоциированы с аденовирусами. Приблизительно 10% случаев детской пневмонии также связано с аденовирусными инфекциями.

Долгое время было непонятно значение аденовирусов в развитии желудочно-кишечных инфекций. В настоящее время известно, что некоторые типы аденовирусов, которые с трудом растут в культуре клеток, могут вызывать развитие желудочно-кишечных заболеваний. Аденовирусы обнаруживают в 4-14% образцов кала у детей с гастроэнтеритом. Таким образом, аденовирусы являются второй после ротавирусов группой патогенов по частоте вызываемых ими желудочно-кишечных заболеваний у детей. В литературе описаны эпидемии, вызванные кишечными аденовирусами. Так же, как и в случае ротавирусов, точное обнаружение вируса имеет важное значение для контроля внутрибольничных инфекций.

Ротавирусы – наиболее важная причина возникновения небактериального гастроэнтерита у детей в возрасте от 6 месяцев до 3 лет, заболевание также встречается у детей старшего возраста и у взрослых. Гастроэнтерит, вызываемый ротавирусами, может приводить к смертельному исходу в группах риска, которые составляют маленькие дети, пожилые люди и пациенты с нарушениями иммунной системы.

В странах с умеренным климатом ротавирусные инфекции встречаются в основном в зимнее время. Описаны эндемические заболевания, а также эпидемии, число заболевших во время которых достигает несколько тысяч человек. Процент детей, госпитализированных с острой формой энтерита, у которых анализы на ротавирус были положительными, достигает 50%. Ротавирусы передаются орально-фекальным путем, поэтому они являются опасным источником вспышек внутрибольничных заболеваний, развитие которых трудно контролировать. В связи с этим для обнаружения ротавирусов и контроля вспышек заболевания важна ранняя и надежная диагностика.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi является одностадийным иммунохроматографическим тестом, включающим моноклональные специфические антитела, связанные с окрашенными латексными частицами, к ротавирусам (красные частицы) и аденовирусам (синие частицы), и специфические антитела к патогену, фиксированные на мембране. Образец кала суспендируют в буфере для экстракции и дают осесть твердым частицам. Аликвоту супернатанта вносят в тест-кассету. Если образец содержит выявляемые антигены, то

происходит образование комплекса «антиген - антитело - латексная частица»; этот комплекс при прохождении вдоль мембраны связывается со специфическими антителами, закрепленными в тестовой полосе, образуя окрашенную полосу.

4. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений:

Cassette	Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)	20 шт.
Diluent	Буфер для экстракции, содержит 0,1% азид натрия; готов к использованию	26 мл
Pipet	Одноразовые пипетки (в упаковке)	25 шт.
Инструкция по применению		

5. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется. Не гарантируется также пригодность тест-кассет после вскрытия упаковки.

6. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для суспензии образцов стула
- Вортекс (дополнительно)
- Пипетка на 200-1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

Только для диагностики *in vitro*.

- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами (например, гипохлоритом) или проавтоклавать при 121°C не менее 1 часа.

8. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2 - 8°C. Для более длительного хранения (свыше трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить и прогреть до комнатной температуры. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 50 мг).

9. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

9.1 Общие замечания

Перед проведением анализа реагенты и тест-кассеты выдержать некоторое время при комнатной температуре (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа. Не выливайте реагенты обратно во флаконы во избежание контаминации.

9.2 Подготовка образцов

Внесите 1 мл буфера для экстракции **Diluent** в подходящую маркированную пробирку. Наберите в одноразовую пипетку **Pipet** 100 мкл жидкого стула (до второго утолщения пипетки) и суспендируйте его в буфере для экстракции. Если стул твердый, отберите эквивалентное количество (объем величиной с горошину около 50 мг) с помощью шпателя. Гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его из пипетки или тщательно перемешивая на Вортексе, чтобы добиться хорошего диспергирования образца.

Оставьте суспензию по крайней мере на 3 мин, пока частицы не осядут, а супернатант не станет прозрачным.

(Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

9.3 Тестирование образца

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли (или 200 мкл) супернатанта суспензии образца в круглое окошко у нижнего края тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью в окошко не попадали твердые частицы. Если проба не впитывается из-за попадания в окошко твердых частиц, не вносите образец до тех пор, пока не увидите, что жидкость проходит через реакционную зону. Через 5 минут проведите учет результатов.

10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;
- не загрязнен ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

11. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

После проведения теста должны появиться максимум три полосы: тестовая полоса синего цвета (T_1), тестовая полоса красного цвета (T_2) и зеленая контрольная полоса (C). Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В окошке кассеты рядом с буквой C появилась только **ЗЕЛЕНАЯ** контрольная полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА АДЕНОВИРУС

В дополнение к зеленой контрольной полосе в окошке кассеты рядом с буквой T_1 появляется **СИНЯЯ** поперечная полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА РОТАВИРУС

В дополнение к зеленой контрольной полосе в окошке кассеты рядом с буквой T_2 появляется **КРАСНАЯ** поперечная полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА АДЕНОВИРУС И РОТАВИРУС

В случае двойной инфекции появляются все три полосы: **СИНЯЯ, КРАСНАЯ и ЗЕЛЕНАЯ**.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Ни одной полосы не наблюдается или наблюдается появление других, отличных от вышеописанных, комбинаций цветовых полос. Любые окрашенные линии, которые появляются через 10 минут, не имеют диагностического значения.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi предназначен для определения антигенов ротавирусов и/или аденовирусов в образцах кала. Результаты теста не могут быть использованы для определения зависимости между интенсивностью окрашивания полос и выраженностью клинической картины. Результаты анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с клиническим диагнозом.

Положительный результат данного теста не исключает присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия ротавирусной или аденовирусной инфекции. Это объясняется пульсирующим характером экскреции вирусов. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

Избыток используемого образца может стать причиной появления темных полос вместо ожидаемых специфически окрашенных. Эти полосы не имеют диагностического значения. В этом случае необходимо повторить тест с меньшим количеством образца или сделать разведение супернатанта ранее приготовленной суспензии; процедуру анализа проводят по той же схеме согласно настоящей инструкции.

13. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность набора тестировали, используя клинические образцы, в сравнении с коммерчески доступным ИФА набором. Результаты приведены в таблице:

Adenovirus			Rotavirus		
RIDA® QUICK			RIDA® QUICK		
ИФА	+	-	ИФА	+	-
+	9	1	+	105	0
-	0	189	-	1	95

Чувствительность: 90,0%
 Специфичность: 100,0%
 Прогнозируемые положительные значения: 100,0%
 Прогнозируемые отрицательные значения: 99,5%

Чувствительность: 100,0%
 Специфичность: 99,0%
 Прогнозируемые положительные значения: 99,1%
 Прогнозируемые отрицательные значения: 100,0%

Экспресс-тест RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi вместе с другими комбинированными коммерчески доступными экспресс-тестами сравнивался с методом ПЦР. Тестируемые образцы были отобраны из панели мультицентрового исследования, состоящей из образцов, полученных у детей возрастом до четырех лет с симптомами гастроэнтерита, лечившихся как в стационаре, так и амбулаторно. Результаты приведены в таблице 2:

		RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi				Coris Bioconcept Rota-Stick			
		Ротавирус		Аденовирус		Ротавирус		Аденовирус	
		+	-	+	-	+	-	+	-
ПЦР	+	45	1	32	12	44	2	23	21
	-	3	51	1	55	1	53	0	56
Чувствительность		97,8 %		72,7 %		95,7 %		52,3 %	
Специфичность		94,4 %		98,2 %		98,1 %		100,0 %	
Прогнозируемое положительное значение		93,8 %		97,0 %		97,8 %		100,0 %	
Прогнозируемое отрицательное значение		98,1 %		80,9 %		96,4 %		72,7 %	
Точность		96,0 %		87,0 %		97,0 %		79,0 %	

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Всего пронумеровано,
 прошнуровано и скреплено
 печатью 2 листов.

Начальник отдела продукции

К.И. Бланк

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«21» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для определения лямблий
(RIDA® QUICK Giardia)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Giardia

Экспресс-тест для качественного определения антигенов *Giardia lamblia* в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест предназначен для быстрого качественного определения антигенов *Giardia lamblia* в образцах кала человека с целью диагностики лямблиоза.

2. ВВЕДЕНИЕ

Giardia lamblia относится к жгутиковым простейшим, обитающим в кишечнике; вне организма хозяина они живут недолго. Заражение происходит при попадании в организм высоко инфекционных цист с пищей или едой. Из-за повсеместного распространения этот организм часто является причиной хронической диареи, особенно диареи путешественников. Обычно лямблиозы распространены в общественных учреждениях и слоях населения с низким уровнем личной гигиены, где основным путем передачи является фекально-оральный. Этот путь передачи наблюдают среди детей в детских садах, а также среди гомосексуалистов и заключенных. Заболевание также может передаваться от детей их родителям. В отличие от маленьких, у детей старше 7 лет заболевание может протекать бессимптомно, однако они выделяют во внешнюю среду цисты и могут служить источником заражения других людей. Лямблиоз характеризуется острой или хронической диареей. Инкубационный период составляет от 3 до 42 дней. В прошлом для диагностики лямблиоза чаще всего проводили исследование кала на наличие цист с помощью микроскопии, а этот метод требует наличия квалифицированного персонала. Кроме того, исследование необходимо проводить длительное время из-за периодического характера выделения паразита.

Альтернативный метод диагностики – иммунохроматографический тест для обнаружения антигенов *Giardia lamblia* в образцах кала. Метод обладает той же чувствительностью, что и микроскопия, не требует специального обучения персонала лаборатории проведению микробиологических исследований, прост в исполнении, не трудоемок.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Giardia является одностадийным иммунохроматографическим тестом, включающим специфические к лямблиям антитела, конъюгированные с окрашенными латексными частицами, и антитела к патогену, фиксированные на мембране. Вначале образец кала суспендируют в буфере для экстракции, затем проводят процедуру осаждения. Аликвоту супернатанта образца вносят в окошко тестового стрипа. Если образец содержит антигены, то происходит образование комплекса антигенов с латексными частицами через специфические антитела; этот комплекс при прохождении через мембрану связывается со специфическими антителами, закрепленными в тестовой полосе.

4. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Cassette**Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)****20 шт.**

Diluent	Буфер для экстракции, содержит 0,1% азид натрия; готов к использованию	30 мл
Pipet	Одноразовые пипетки (в упаковке)	25 шт.
Инструкция по применению		

5. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется.

6. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для суспензии образцов кала
- Вортекс (дополнительно)
- Пипетка на 200 -1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

Только для диагностики *in vitro*.

- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавировать при 121°C не менее 1 часа.

8. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения (свыше трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить и прогреть до комнатной температуры. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 50 мг).

9. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

9.1. Общие замечания

Перед проведением анализа выдержите реагенты и тест-кассеты некоторое время при комнатной температуре (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа. Не выливайте реагенты обратно во флаконы во избежание контаминации.

9.2. Подготовка образцов

Внесите 1 мл буфера для экстракции **Diluent** в подходящую маркированную пробирку.

Наберите в одноразовую пипетку **Pipet** 100 мкл (чуть выше уровня второго утолщения) жидкого кала и суспендируйте его в буфере для экстракции. Если кал твердый, отберите эквивалентное количество (объем величиной с горошину около 50 мг) с помощью шпателя. Гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его из пипетки или тщательно перемешивая на Вортексе, чтобы добиться хорошего диспергирования образца. Оставьте суспензию по крайней мере на 3 мин, пока частицы не осядут, а супернатант не станет прозрачным.

(Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

9.3. Проведение анализа

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли (или дозатором 200 мкл) супернатанта суспензии образца в круглое окошко тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью в пипетку не попали твердые частицы; если это произошло, удалите их до внесения образца. Попадание в окошко частиц может затруднить процесс прохождения пробы через реакционную зону. Через 5 минут проведите учет результатов.

10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;
- не загрязнен ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

11. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

После проведения теста должны появиться максимум две полосы: одна тестовая полоса (красная) и одна контрольная полоса (синяя).

Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В окошке кассеты появляется только **СИНЯЯ** контрольная полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В дополнение к синей контрольной полосе появляется **КРАСНАЯ** тестовая полоса.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Ни одной полосы не наблюдается или наблюдается появление других, отличных от вышеописанных, комбинаций цветовых полос. Любые окрашенные линии, которые появляются через 10 мин, не имеют диагностического значения.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Giardia предназначен для определения антигенов лямблиоза в образцах кала. Результаты теста не могут быть использованы для определения зависимости между интенсивностью окрашивания полос и выраженностью клинической картины. Результаты анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с клиническим диагнозом.

Положительный результат данного теста не исключает присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия инфекции. Это объясняется пульсирующим характером экскреции вируса. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

Избыток используемого образца может стать причиной появления темных полос вместо ожидаемых специфически окрашенных. Эти полосы не имеют диагностического значения. В таких случаях необходимо повторить тест с меньшим количеством образца или сделать разведение супернатанта ранее приготовленной суспензии; процедуру анализа проводят по той же схеме согласно инструкции.

13. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

13.1 Сравнительные исследования

Было проведено сравнительное исследование RIDA® QUICK Giardia и метода микроскопирования. В исследовании использовали всего 55 свежих и замороженных образцов, из которых 15 были положительными на лямблии, 40 – отрицательными. Результаты представлены в таблице 1.

		RIDA® QUICK Giardia	
		+	-
Микроскопия	+	15	0
	-	2	38

Чувствительность:	100,0%
Специфичность:	95,2%
Прогнозируемые положительные значения:	88,2%
Прогнозируемые отрицательные значения:	100,0%

13.2 Перекрестная реактивность

Для RIDA® QUICK Giardia перекрестная реакция не была обнаружена со следующими видами возбудителей кишечных инфекций:

Entamoeba coli
Blastocystis hominis
Jodamoeba buetschlii
Chilomastix mesnili
Endolimax mana
Eggs of Taenia spp.
Cryptosporidium parvum

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

Всего пронумеровано,
прошнуровано и скреплено
печатью 2 листов.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«27» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для определения криптоспоридий
(RIDA® QUICK Cryptosporidium)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Cryptosporidium

Экспресс-тест для качественного определения *in vitro* антигенов *Cryptosporidium parvum* в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест предназначен для быстрого качественного определения антигенов *Cryptosporidium parvum* в образцах кала человека с целью диагностики криптоспориديоза.

2. ВВЕДЕНИЕ

Криптоспоридиоз – инфекция, вызываемая *Cryptosporidium parvum* – простейшими класса криптоспоридий, безжгутиковыми организмами, содержащими споры внутри ооцист. Они инфицируют желудочно-кишечный тракт млекопитающих и для домашних животных, в особенности телят, являются одним из наиболее важных паразитов, вызывая развитие энтерита. Однако криптоспоридии обнаруживаются и у людей, причем случаи инфекции выявляются во многих странах гораздо чаще, чем ранее предполагалось.

Криптоспоридии эндемичны для развивающихся стран тропического региона, где они часто вызывают эпидемическую диарею у детей. Течение заболевания связано с состоянием иммунной системы. У больных с хорошей иммунореактивностью инфекционный гастроэнтерит, вызванный данным паразитом, обычно самокупируется. Диарея продолжается от 3 до 10 дней и может сопровождаться симптомами, сходными с симптомами лямблиоза: высокой температурой, тошнотой и болями в области живота. Более тяжелые симптомы и последствия наблюдаются у пациентов с ослабленной иммунной системой; в этом случае диарея может продолжаться долго, протекать очень тяжело и приводить к угрожающему жизни обезвоживанию организма. Инфекция передается от животных к человеку через зараженную воду, а также распространяется от человека к человеку. Особенно подвержены опасности дети в детских учреждениях, мужчины-гомосексуалисты и ВИЧ-инфицированные, а также пациенты и сотрудники учреждений социальной защиты.

В прошлом диагностику криптоспоридиоза чаще всего проводили с помощью микроскопического исследования кала на наличие ооцист или образцов биоптата тонкого кишечника — метода, требующего наличия квалифицированного персонала.

Иммунохроматографический экспресс-тест для обнаружения антигенов *Cryptosporidium parvum* в образцах кала является полезной альтернативой микроскопическому исследованию. Этот тест, основанный на использовании моноклональных антител, обладает той же чувствительностью и специфичностью, что и микроскопия, не требует от персонала владения микробиологическими методами, быстр и прост в исполнении.

ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Cryptosporidium является одностадийным иммунохроматографическим тестом, включающим специфичные к криптоспоридиям антитела с окрашенными латексными частицами и специфичные антитела к патогену, прикрепленные к мембране. Образец кала суспендируют в буфере для экстракции и дают частицам суспензии осесть. Аликвоту супернатанта образца вносят в тест-кассету. Если образец содержит антигены, они связываются со специфическими антителами, иммобилизованными на

частицах латекса. Образовавшийся комплекс движется вдоль мембраны и связывается со специфическими антителами, иммобилизованными в зоне тестовой полосы.

3. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Необходимые реагенты, входящие в состав набора

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)	Cassete	20 шт.
Буфер для экстракции	Diluent	30 мл
Одноразовые пипетки	Pipet	25 шт.
Инструкция по применению		

4. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется.

5. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для суспензии образцов стула
- Вортекс (дополнительно)
- Пипетка на 200 - 1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

- Тест предназначен только для диагностики *in vitro*.
- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Курение, прием пищи и воды в месте проведения анализа запрещено.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавировать при 121°C не менее 1 часа.

7. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения (свыше трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить и прогреть до комнатной температуры. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов. При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 50 мг).

8. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

8.1 Общие замечания

Перед проведением анализа выдержите реагенты и тест-кассеты некоторое время при комнатной температуре (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа. Не выливайте реагенты обратно во флаконы во избежание контаминации.

8.2 Подготовка образцов

Внесите 1 мл буфера для экстракции Diluent в подходящую маркированную пробирку.

Наберите в одноразовую пипетку Pipet 100 мкл (чуть выше уровня второго утолщения) жидкого кала и суспендируйте его в буфере для экстракции. Если кал твердый, отберите эквивалентное количество (объем величиной с горошину около 50 мг) с помощью шпателя. Гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его из пипетки или тщательно перемешивая на Вортексе, чтобы добиться хорошего диспергирования образца. Оставьте суспензию по крайней мере на 3 мин, пока частицы не осядут, а супернатант не станет прозрачным.

(Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

8.3 Проведение анализа

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли (или дозатором 200 мкл) супернатанта суспензии образца в круглое окошко тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью в пипетку не попали твердые частицы; если это произошло, удалите их до внесения образца. Попадание в окошко частиц может затруднить процесс прохождения пробы через реакционную зону. Через 5 минут проведите учет результатов.

9. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;
- не загрязнен ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

10. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

После проведения теста должны появиться максимум две полосы: одна тестовая полоса (красная) и одна контрольная полоса (синяя).

Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В окошке кассеты появляется только **СИНЯЯ** контрольная полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В дополнение к синей контрольной полосе появляется **КРАСНАЯ** тестовая полоса.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Ни одной полосы не наблюдается или наблюдается появление других, отличных от вышеописанных, комбинаций цветовых полос. Любые окрашенные линии, которые появляются позже, чем через 10 мин, не имеют диагностического значения.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Cryptosporidium предназначен для определения антигенов криптоспоридий в образцах кала. Зависимости между интенсивностью окрашивания полос и выраженностью клинической картины не существует. Результаты анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с данными клинического обследования.

Положительные результаты данного теста не исключают присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия инфекции. Это объясняется пульсирующим характером экскреции патогенов или слишком малым их содержанием в образце. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

Избыток используемого образца может стать причиной появления темных полос вместо ожидаемых специфически окрашенных. Эти полосы не имеют диагностического значения. В этом случае необходимо повторить тест с меньшим количеством образца или сделать разведение супернатанта ранее приготовленной суспензии; процедуру анализа проводят по той же схеме согласно настоящей инструкции.

12. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

12.1 Сравнительные исследования

Было проведено сравнительное исследование панели образцов методами RIDA® QUICK Cryptosporidium и микроскопии. В исследовании использовали всего 55 свежих и замороженных образцов, из которых 15 были положительными, 40 – отрицательными на криптоспоридии. Результаты представлены в таблице 1.

		RIDA® QUICK Cryptosporidium	
		+	-
Микроскопия	+	14	1
	-	0	40

Чувствительность:	93,8%
Специфичность:	100,0%
Прогнозируемое положительное значение:	100,0%
Прогнозируемое отрицательное значения:	97,5%

13.2 Перекрестная реактивность

Для RIDA® QUICK Cryptosporidium перекрестная реакция не была обнаружена со следующими видами возбудителей кишечных инфекций:

Entamoeba coli
Blastocystis hominis
Jodamoeba buetschlii
Chilomastix mesnili
Endolimax mana
Eggs of Taenia spp.
Giardia lamblia

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

Всего пронумеровано,
прошнуровано и склеено
печатью 2 ЛИСТОВ.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«26» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Набор реагентов для определения криптоспоридий и лямблий
(RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)**

RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi

Экспресс-тест для качественного одновременного определения антигенов *Cryptosporidium parvum* и/или *Giardia lamblia* в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест предназначен для быстрого качественного определения антигенов *Cryptosporidium parvum* и *Giardia lamblia* в образцах кала человека с целью одновременной дифференциальной диагностики криптоспоридоза и лямблиоза.

2. ВВЕДЕНИЕ

Криптоспоридиоз — инфекция, вызываемая *Cryptosporidium parvum* — простейшими класса криптоспоридий, безжгутиковыми организмами, содержащими споры внутри ооцист. Они инфицируют желудочно-кишечный тракт млекопитающих и для домашних животных, в особенности телят, являются одним из наиболее важных паразитов, вызывая развитие энтерита. Однако криптоспоридии обнаруживаются и у людей, причем случаи инфекции выявляются во многих странах гораздо чаще, чем ранее предполагалось.

Криптоспоридии эндемичны для развивающихся стран тропического региона, где они часто вызывают эпидемическую диарею у детей. Течение заболевания связано с состоянием иммунной системы. У больных с хорошей иммунореактивностью инфекционный гастроэнтерит, вызванный данным паразитом, обычно самокупируется. Диарея продолжается от 3 до 10 дней и может сопровождаться симптомами, сходными с симптомами лямблиоза: высокой температурой, тошнотой и болями в области живота. Более тяжелые симптомы и последствия наблюдаются у пациентов с ослабленной иммунной системой; в этом случае диарея может продолжаться долго, протекать очень тяжело и приводить к угрожающему жизни обезвоживанию организма. Инфекция передается от животных к человеку через зараженную воду, а также распространяется от человека к человеку. Особенно подвержены опасности дети в детских учреждениях, мужчины-гомосексуалисты и ВИЧ-инфицированные, а также пациенты и сотрудники учреждений социальной защиты.

В прошлом диагностику криптоспоридиоза чаще всего проводили с помощью микроскопического исследования кала на наличие ооцист или образцов биоптата тонкого кишечника — метода, требующего наличия квалифицированного персонала.

Giardia lamblia относится к жгутиковым простейшим, обитающим в кишечнике; вне организма хозяина они живут недолго. Заражение происходит при попадании в организм высоко инфекционных цист с пищей или едой. Из-за повсеместного распространения этот организм часто является причиной хронической диареи, особенно диареи путешественников. Обычно лямблиозы распространены в слоях населения с низким уровнем личной гигиены и антисанитарными условиями приема пищи и посещения туалета. Основным путем передачи от человека человеку — фекально-оральный. Он наблюдается в детских садах, в центрах социальной защиты, среди мужчин-гомосексуалистов и заключенных. Инфекция может также передаваться от маленьких детей родителям. Инфекция детей старше 7 лет, в отличие от младших, может протекать без видимых симптомов заболевания. При этом они являются носителями цист, периодически выделяя их и оставаясь источником инфекции для других людей. Основным симптом лямблиоза — острая или хроническая

диарея. Инкубационный период длится от 3 до 42 дней. Клиническим проявлением острой инфекции является внезапный водянистый стул, спазмы в брюшной полости и вздутие живота. У пациентов возникает чувство недомогания, тошнота и потеря аппетита, реже бывает рвота и лихорадка; кровь, гной и слизь обычно отсутствуют.

В прошлом наиболее обычным способом диагностики криптоспоридийного энтерита было исследование кала на наличие ооцист, а лямблиоза – на наличие трофозоитов или цист. Исследование кала проводилось методами микроскопии и окрашивания, требующими наличия квалифицированного опытного лабораторного персонала. Кроме того, такое исследование необходимо проводить в течение всего времени, когда может происходить периодическое выделение паразита.

Эквивалентный метод диагностики – иммунохроматографический тест для обнаружения антигенов *Cryptosporidium parvum* и *Giardia lamblia* в образцах кала. Метод демонстрирует ту же чувствительность, что и микроскопия, не нуждается в опытном лабораторном персонале микробиологов и специалистов иммуноферментных тестов, он прост в исполнении, занимает немного времени и не требует, чтобы в образцах кала присутствовали интактные организмы (ооцисты, трофозоиты или цисты).

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi является одностадийным тестом, основанным на иммунохроматографическом принципе. Для определения подходят только свежеприготовленные образцы кала.

4. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Необходимые реагенты, входящие в состав набора

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)	Cassete	20 шт.
Буфер для экстракции	Diluent	30 мл
Одноразовые пипетки	Pipet	25 шт.
Инструкция по применению		

5. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется.

6. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для суспензии образцов кала
- Вортекс (дополнительно)
- Пипетка на 200 -1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

Только для диагностики *in vitro*.

- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавить при 121°C не менее 1 часа.

8. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения (свыше трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить и прогреть до комнатной температуры. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 50 мг).

9. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

9.1 Общие замечания

Перед проведением анализа выдержите реагенты и тест-кассеты некоторое время при комнатной температуре (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа. Не выливайте реагенты обратно во флаконы во избежание контаминации.

9.2 Подготовка образцов

Внесите 1 мл буфера для экстракции **Diluent** в подходящую маркированную пробирку.

Наберите в одноразовую пипетку **Pipet** 100 мкл (чуть выше уровня второго утолщения) жидкого кала и суспендируйте его в буфере для экстракции. Если кал твердый, отберите эквивалентное количество (объем величиной с горошину около 50 мг) с помощью шпателя. Гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его из пипетки или тщательно перемешивая на Вортексе, чтобы добиться хорошего диспергирования образца. Оставьте суспензию по крайней мере на 3 мин, пока частицы не осядут, а супернатант не станет прозрачным.

(Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

9.3 Проведение анализа

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли (или дозатором 200 мкл) супернатанта суспензии образца в круглое окошко тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью в пипетку не попали твердые частицы; если это произошло, удалите их до внесения образца. Попадание в окошко частиц может затруднить процесс прохождения пробы через реакционную зону. Через 5 минут проведите учет результатов.

10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;
- не контаминирован ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

11. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

После проведения теста должны появиться максимум три полосы в следующем порядке: тестовая полоса синего цвета (T₁), тестовая полоса красного цвета (T₂) и зеленая контрольная полоса (C).

Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ	А) Положительный по криптоспоридиям. В центральном окошке кассеты в дополнение к зеленой контрольной полосе (C) появляется СИНЯЯ тестовая полоса (T₁) В) Положительный по жиадиям. В центральном окошке кассеты в дополнение к зеленой контрольной полосе (C) появляется КРАСНАЯ тестовая полоса (T₂) С) Положительный по криптоспоридиям и по жиадиям. В центральном окошке кассеты в дополнение к зеленой контрольной полосе (C) появляются СИНЯЯ и КРАСНАЯ тестовые полосы Интенсивность окраски полос может быть разной, она зависит от концентрации обоих антигенов в образце кала
--------------------------------	---

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ	В белом центральном окошке кассеты появляется только ЗЕЛЕНАЯ контрольная полоса рядом с буквой C
НЕВЕРНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ	В белом центральном окошке кассеты рядом с буквой C отсутствует ЗЕЛЕНАЯ контрольная полоса. В этом случае исследование необходимо повторить на новой кассете

Любые окрашенные линии, которые появляются позже, чем через 10 мин, не имеют диагностического значения. Такой результат может быть при использовании избыточного количества образца.

12. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИИ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Положительные результаты не исключают присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствие инфекций *Cryptosporidium parvum* и *Giardia lamblia*. Это происходит из-за пульсирующего выделения обоих паразитов. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

Окончательный диагноз криптоспориоза и/или лямблиоза должен основываться на подтверждении полученных результатов дальнейшими клиническими исследованиями.

13. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Были проведены сравнительные исследования RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi и метода микроскопии как с замороженными образцами, так и со свежими пробами кала. Исследовали 55 проб (15 - положительных по жиардиям (лямблиям) и *Cryptosporidium parvum*, и 40 - отрицательных по обоим возбудителям). Результаты приведены в таблицах 1 и 2.

Табл.1 Сравнение RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi с методом микроскопии (оценивалась только полоса, специфичная для криптоспоридий)

	RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi		
Микроскопия		+	-
	+	14	1
	-	0	40

Чувствительность: 93,8%

Прогнозируемые положительные значения: 100,0%

Специфичность: 100,0%

Прогнозируемые отрицательные значения: 97,5%

Табл. 2 Сравнение RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi с методом микроскопии (оценивалась только полоса, специфичная для жиардий)

	RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi		
Микроскопия		+	-
	+	15	0
	-	2	38

Чувствительность: 100,0%

Прогнозируемые положительные значения: 88,2%

Специфичность: 95,2%

Прогнозируемые отрицательные значения: 100,0%

Перекрестная реактивность

Для RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi перекрестная реакция не была обнаружена со следующими видами возбудителей кишечных инфекций:

Entamoeba coli

Blastocystis hominis

Jodamoeba buetschlii

Chilomastix mesnili

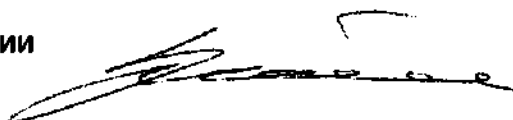
Endolimax mana
Eggs of Taenia spp.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

В случае положительного результата в течение 3 минут после внесения субстрата появляются обе полосы синего цвета: тестовая и контрольная. Отсутствие контрольной линии означает, что тест проведен неверно и его результаты не могут считаться достоверными. Необходимо провести повторное исследование с другой тест-кассетой.

4. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Cassette	Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)	20 шт.
Diluent	Буфер для разведения образцов (прозрачная крышка); буферный раствор, содержащий белок, хлорид натрия, 0,05% Kathon CG (консервант), готов к использованию (синего цвета)	30 мл
Wash	Буфер для промывки (желтая крышка); фосфатный буферный раствор с хлоридом натрия, готов к использованию	10 мл
Conjugate 1	Конъюгат антител к антигенам норовирусов с биотином (оранжевая крышка) в стабилизирующем белковом растворе, готов к использованию (раствор синего цвета)	7 мл
Conjugate 2	Конъюгат стрептавидина с пероксидазой (белая крышка) в стабилизирующем белковом растворе, готов к использованию	5 мл
Substrate	Субстрат/хромоген (голубая крышка); перекись водорода/ТМБ; готов к использованию	7 мл
Pipet	Одноразовые градуированные пипетки (в упаковке)	25 шт.
Инструкция по применению		

5. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется. Если индивидуальная упаковка повреждена и тест-кассета подвергалась воздействию влажности, использовать ее нельзя, так как ее пригодность для выполнения анализа не может быть гарантирована.

6. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для приготовления суспензии образцов кала
- Вортекс
- Одноразовые перчатки
- Таймер
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита натрия
- Одноразовые бактериологические петли или шпатели для отбора образцов кала

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

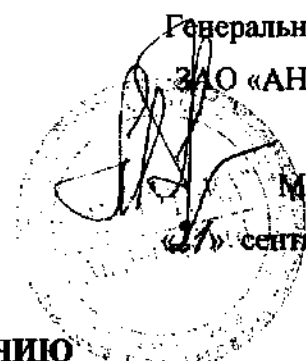
1. Только для диагностики *in vitro*.
2. Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При работе необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях.
3. При проведении анализа строго следуйте инструкции по применению набора.
4. Буфер для экстракции содержит консервант Kathon CG. Избегайте контакта этого реагента с кожей и слизистыми.
5. Не пипетируйте ртом образцы или реагенты.
6. Избегайте контакта реагентов с поврежденными участками кожи или слизистыми.
7. При работе с образцами всегда используйте одноразовые перчатки, тщательно мойте руки сразу после окончания работы.
8. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
9. Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавировать при 121°C не менее 1 часа.
10. Нельзя использовать реагенты набора RIDA® QUICK Norovirus после окончания срока годности. Реагенты подобраны таким образом, чтобы обеспечить оптимальную активность всех составляющих. Во избежание потери активности не допускается разбавление или замена реагентов. Несоблюдение временного или температурного режима при проведении анализа ведет к получению недостоверных результатов.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

27 сентября 2009 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для определения норовируса
(RIDA® QUICK Norovirus)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Norovirus

Иммунохроматографический экспресс-тест для качественного *in vitro* выявления геногрупп I и II норовируса в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор RIDA® QUICK Norovirus предназначен для быстрого выявления норовирусов геногрупп I и II в образцах кала человека с целью диагностики инфекционного гастроэнтерита.

2. ВВЕДЕНИЕ

Норовирусы – основной возбудитель гастроэнтеритов по всему миру, только в США число случаев инфекций, вызванных данным вирусом, насчитывает около 23 миллионов в год. Вспышки заболеваний, вызываемые норовирусами, очень часто возникают в общественных учреждениях, таких как дома престарелых, больницы, ясли, тюрьмы и круизные лайнеры, где инфекция распространяется очень быстро от человека к человеку либо через зараженную пищу. Эпидемии, связанные с норовирусной инфекцией, отмечаются гораздо чаще эпидемий, вызванных бактериальными патогенами, и оказывают существенное воздействие на здоровье населения.

Набор RIDA® QUICK Norovirus основан на прямом чувствительном методе выявления антигенов норовирусов с помощью моноклональных антител, что позволяет быстро и достоверно определять антигены в образцах кала и выбрать соответствующие средства лечения. Данный экспресс-тест особенно подходит для исследования небольших серий образцов.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Norovirus является многостадийным иммунофилтрационным тестом, в котором используются специфичные моноклональные антитела к антигенам норовируса. Корпус тест-кассеты имеет небольшое окошко для внесения образца и тестовое окно, в котором находятся две реакционные зоны, содержащие иммобилизованные антитела. В зоне тестовой полосы (Т) фиксированы антитела к антигенам норовируса, в зоне контрольной полосы (С) – антитела к IgG мыши. Конъюгат 1 представляет собой биотинилированные антитела к антигенам норовируса, а конъюгат 2 – стрептавидин, меченный пероксидазой. В процессе тестирования супернатант предварительно подготовленной суспензии образца смешивается с конъюгатом 1 и эта смесь вносится в окошко для образца. В процессе первой инкубации (10 минут при комнатной температуре) смесь образец-конъюгат проходит через фильтрующую прокладку, где происходит абсорбция образца, и мигрирует далее вдоль тестовой мембраны. Присутствующие в положительных образцах антигены норовируса образуют с антителами конъюгата комплекс, который взаимодействует в области тестовой линии с иммобилизованными антителами к норовирусу, а не связавшиеся с антигеном биотинилированные антитела конъюгата взаимодействуют с антителами контрольной линии. После добавления конъюгата 2 проводится вторая инкубация (1 минута при комнатной температуре), при этом меченный пероксидазой стрептавидин связывается с биотином конъюгата 1 в зонах тестовой и контрольной полос. Несвязавшийся конъюгат 2 удаляется добавлением в тестовое окно промывающего буфера.

11. Нельзя смешивать или совместно использовать реагенты из различных серий набора RIDA® QUICK Norovirus.
12. Необходимо защищать реагенты и пробы от микробной контаминации, в противном случае результаты не могут считаться надежными.
13. Для каждого образца необходимо использовать новый одноразовый наконечник, чтобы избежать перекрестной контаминации и появления ложных результатов.
14. Тест-кассеты можно использовать только однократно.

8. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2-8°C. Сбор образца необходимо провести как можно быстрее после появления симптомов (диареи и рвоты), так как период максимальной элиминации вируса из организма человека приходится на 1-3 день после появления симптомов заболевания. Для более длительного хранения (более трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить, прогреть до комнатной температуры и тщательно перемешать. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 100 мг).

9. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

Перед проведением анализа реагенты и тест-кассеты должны быть прогреты до комнатной температуры (20-25°C). Тест-кассету необходимо достать из упаковки только непосредственно перед использованием. Допускается только однократное использование тест-кассет. Они не должны подвергаться воздействию прямых солнечных лучей.

9.1. Подготовка суспензии образца

Внесите 1 мл буфера для разведения образцов **Diluent** в соответствующую промаркированную пробирку. Отберите одноразовой пипеткой **Pipet** 100 мкл жидкого кала (уровень чуть выше второго утолщения на пипетке) и перенесите его в пробирку, где суспендируете в буфере для разведения образцов. Если кал твердый, отберите около 50-100 мг образца (величиной с горошину) с помощью шпателя или бактериологической петли и перенесите его в буфер. Хорошо гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его пипеткой **Pipet** или тщательно перемешивая на Вортексе. Оставьте суспензию отстояться, по крайней мере, на 2 минуты, пока частицы не осядут.

(Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

10. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

- 1) Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность.
- 2) Перенесите в чистую промаркированную пробирку 250 мкл (первая отметка на пипетке) супернатанта суспензии образца; используйте ту же пипетку, что и для приготовления суспензии этого образца.

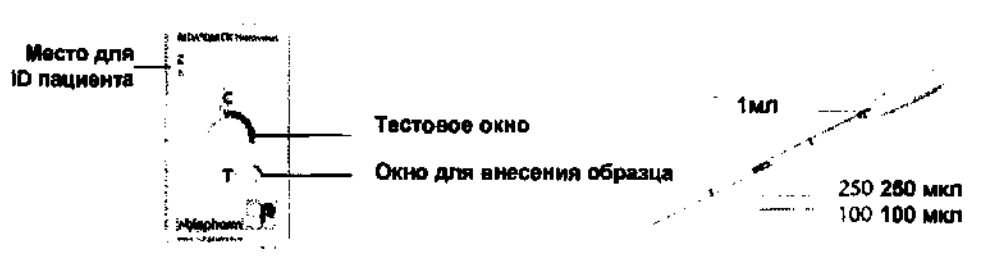


Рис.1 Тест-кассета и одноразовая пипетка

- 3) Затем внесите в пробирку 6 капель конъюгата 1 **Conjugate 1**, держа флакон-капельницу строго вертикально.
- 4) Тщательно перемешайте смесь образца с конъюгатом и затем перенесите с помощью той же пластиковой пипетки весь полученный объем в круглое окошко для образца. Вносите образец медленно и равномерно, держа пипетку под углом 45° к плоскости тест-кассеты, таким образом, чтобы смесь в полном объеме попала на мембрану (Рис.2).

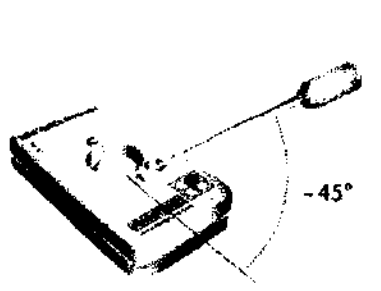


Рис.2 Внесение образца одноразовой пипеткой в окошко для образца.

- 5) Инкубируйте тест-кассету в течение **10 минут** при комнатной температуре (20-25°C). Убедитесь, что вся мембрана пропиталась смесью образца с конъюгатом, в противном случае добавьте еще 100 мкл буфера для разведения образцов **Diluent** в окошко для внесения образца.
- 6) Внесите **4 капли** конъюгата **2 Conjugate 2** в тестовое окно и инкубируйте тест-кассету еще **1 минуту** при комнатной температуре.
- 7) Внесите **10 капель** буфера для промывки **Wash** в тестовое окно и дайте ему полностью впитаться.
- 8) Внесите **6 капель** субстрата **Substrate** в тестовое окно.
- 9) В течение следующих **3 минут** считайте результат теста. Окрашивание полос, появившееся после 3 минут, не имеет диагностического значения.

11. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

- 1) Достоверными считаются результаты, которые были считаны при хорошем освещении в течение 3 минут после внесения субстрата.
- 2) Проверьте, появились ли в тестовом окне синяя полоса (так называемая «линия внутреннего контроля») в контрольной области «С» и синяя полоса (так называемая «тестовая линия») в тестовой области «Т». Интенсивность окраски линий может варьировать от слабой до сильной.
- 3) **Положительный результат:** если в течение 3 минут после внесения субстрата в тестовом окне появились контрольная «С» и тестовая «Т» синие линии (интенсивность линий может варьироваться от слабой до сильной), результат считается положительным. Только отдельная линия различной интенсивности считается положительным результатом, размытое или теньвидное окрашивание мембраны учитываться не должно.
- 4) **Отрицательный результат:** если через 3 минуты после внесения субстрата в тестовом окне появилась только одна контрольная «С» линия, а тестовая «Т» линия отсутствует, результат считается отрицательным. Это означает, что в исследуемом образце нет антигенов норовируса или их количество так мало, что находится ниже предела определения тест системы.
- 5) **Недостоверный результат:** нет видимых полос ни в контрольной области «С», ни в тестовой «Т» или есть полоса только в тестовой области «Т», а контрольная полоса отсутствует. В обоих случаях результаты теста считаются недостоверными и тест должен быть выполнен повторно с другой тест-кассетой.



Рис. 3 Интерпретация результатов теста

12. ПОКАЗАТЕЛИ ПРИГОДНОСТИ РЕАГЕНТОВ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Результаты теста можно интерпретировать, если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца, а до использования целостность индивидуальной упаковки не была нарушена. За исключением слабого розового окрашивания в контрольной (C) области, на мембране не должно быть видимых цветовых изменений или полос. Более того, после окончания времени инкубации обязательно должна быть видна контрольная полоса синего цвета. Если контрольная полоса не появилась, перед повторным исследованием необходимо проверить следующие моменты:

- Срок годности используемых реагентов
- Точность выполнения процедуры исследования
- Возможность контаминации буфера для экстракции

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора или региональным представителем.

После проведения теста должны появиться максимум две полосы: тестовая (T) и контрольная (C).

Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

Появление синей контрольной полосы свидетельствует о том, что образцы и реагенты внесены правильно, реагенты сохраняли в момент проведения анализа свою активность. Бесцветный фон в тестовом окне играет роль внутреннего отрицательного контроля. Если тест проведен правильно и реагенты работают корректно, то фон будет бесцветным.

13. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Norovirus предназначен для определения норовирусов геногруппы I и геногруппы II и подтверждения их присутствия в образцах кала, в случае, если количество вирусных частиц выше предела обнаружения тест-системы. Очень важно, чтобы забор образцов кала пациентов производился в период, когда присутствуют симптомы гастроэнтерита. Интенсивность синего окрашивания тестовой полосы не отражает степень тяжести клинических симптомов заболевания, но примерно соответствует содержанию вирусных частиц в исследуемом образце. Интенсивность линий может варьировать от слабой до очень сильной.

Положительный результат данного теста не исключает присутствия других патогенов. Наличие в исследуемом образце двух и более патогенов одновременно также не исключено, но выяснить это можно, только проведя дифференциальную диагностику. При смешанной инфекции, вызванной несколькими патогенами, симптомы могут быть более тяжелыми, чем при моновирусной инфекции.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия норовируса и того, что именно этот возбудитель стал причиной гастроэнтерита у данного пациента. Это может объясняться несколькими причинами: пульсирующий характер экскреции вируса, количество вирусных частиц в исследуемом образце ниже предела обнаружения набора, образец был получен в неподходящее время, неправильные условия хранения и транспортировки образца. Если имеется обоснованное подозрение на наличие норовирусной инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого пациента.

14. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Примерно в 70 % случаев норовирус является причиной эпидемий гастроэнтеритов небактериальной природы во всем мире и причиной 50% всех энтеритов; таким образом, он считается наиболее частым возбудителем данного заболевания. Вспышки болезней, вызываемые норовирусом, чаще возникают в общественных учреждениях. Возможны и единичные случаи заболевания. После ротавируса это наиболее распространенный возбудитель гастроэнтеритов как у детей, так и у взрослых. Так как генетически группа норовирусов достаточно разнообразна, после перенесенного заболевания у человека не возникает устойчивого иммунитета ко всем норовирусам и сохраняется опасность повторного инфицирования.

Таким образом, доля положительных результатов может значительно меняться в зависимости от распространенности норовируса в конкретной популяции, геногруппы, циркулирующей в данной области, и окружающих пациентов условий. На долю положительных значений также могут влиять процедуры сбора, хранения и транспортировки исследуемых образцов.

15. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

С помощью набора RIDA® QUICK Norovirus были проведены исследования 113 образцов кала больных как спорадическими, так и групповыми гастроэнтеритами. Эти образцы были собраны зимой 2007-2008 гг. у больных, проживающих в центральном округе Гамбурга, сразу проанализированы в Институте Гигиены с применением метода ПЦР в реальном времени и затем заморожены. Летом 2008 года они были проанализированы параллельно с помощью набора RIDA® QUICK Norovirus и ИФА набора RIDASCREEN® Norovirus ELISA в качестве референсного. Результаты приведены в Таблице 1.

Таблица 1. Сравнение результатов набора RIDA® QUICK Norovirus, ПЦР в «реальном» времени и RIDASCREEN® Norovirus ELISA.

		RIDA® QUICK Norovirus Панель WS2007/8		RIDASCREEN® Norovirus ELISA Панель WS2007/8	
		+	–	+	–
ПЦР в «реальном» времени	+	49	8	43	13
	–	3	53	1	55

Чувствительность:	86,0%	76,8%
Специфичность:	94,6%	98,2%
Положительные прогнозируемые значения:	94,2%	97,7%
Отрицательные прогнозируемые значения:	86,9%	80,9%
Точность	90,3%	87,5%

15.1 Воспроизводимость

Три независимые лаборатории анализировали 5 образцов кала (2 отрицательных, 2 слабopоложительных и 1 положительный результат средней интенсивности), каждый в четырех повторах два раза в день (воспроизводимость внутри анализа), эту процедуру повторяли в течение 3-х дней (воспроизводимость между анализами). Воспроизводимость результатов, полученных с помощью набора RIDA® QUICK Norovirus, составила 100%.

15.2 Перекрестная реактивность

Набором RIDA® QUICK Norovirus анализировались суспензии различных патогенов желудочно-кишечного тракта, при этом никаких перекрестных реакций выявлено не было. Исследования проводились на неразведенных бактериальных суспензиях, концентрация патогенов в которых варьировала от 10^6 до 10^9 клеток на мл. Результаты приведены в Таблице 2.

Таблица 2. Исследования перекрестной реактивности с различными микроорганизмами.

Протестированные микроорганизмы	Происхождение	Название	Результат
Citrobacter freundii		DSM 30047	Отрицательный
Enterobacter cloacae		DSM 30054	Отрицательный
Enterococcus faecalis		DSM 2570	Отрицательный
Enterococcus faecium		DSM20477	Отрицательный
E. coli	Изолят		Отрицательный
E. coli	Изолят		Отрицательный
E. coli	Изолят		Отрицательный
E. hermannii		DSM 4560	Отрицательный
Lactococcus lactis		DSM 20481	Отрицательный
Listeria innocua		DSM 20649	Отрицательный
Proteus mirabilis		DSM 788	Отрицательный
Proteus mirabilis		DSM 4479	Отрицательный

Proteus vulgaris		DSM 30119	Отрицательный
Providencia stuartii			Отрицательный
Pseudomonas aeruginosa		DSM 939	Отрицательный
Salmonella Agona	Изолят		Отрицательный
Salmonella choleraesuis		DSM 4224	Отрицательный
Salmonella infantis	Изолят		Отрицательный
Salmonella Ohio	Изолят		Отрицательный
Salmonella typhimurium	Изолят	DSM 554	Отрицательный
Staphylococcus aureus		DSM 20372	Отрицательный
Streptococcus agalactiae	Изолят	DSM 2134	Отрицательный
Streptococcus dysgalactiae	Изолят	DSM 20662	Отрицательный
E. coli (O157:H-)	Изолят		Отрицательный
E. coli (O116:H21)	Изолят		Отрицательный
E. coli (O111:H-)	Изолят		Отрицательный
E. coli (O22:H8)	Изолят		Отрицательный
E. coli (O26:H11)	Изолят		Отрицательный
Candida albicans		ATCC 10231	Отрицательный
Salmonella enteritidis		DSM 9898	Отрицательный
Morganella morganii		DSM 6675	Отрицательный
Shigella boydii		DSMZ 7532	Отрицательный
Listeria grayi		DSMZ 20596	Отрицательный
Listeria denitrificans		DSMZ 20603	Отрицательный
Listeria grayi		DSMZ 20601	Отрицательный
Listeria seelgeri		DSMZ 20751	Отрицательный
Listeria welshimeri		DSMZ 20650	Отрицательный
Listeria ivanovii subsp. Ivanovii		DSMZ 20750	Отрицательный
Listeria monocytogenes SG 1/2a		DSMZ 20600	Отрицательный
Listeria monocytogenes SG 1		ATCC 19111	Отрицательный
Listeria monocytogenes SG 4b		ATCC 19115	Отрицательный
Enterobacter sakasaki			Отрицательный

15.3 Вещества, влияющие на проведение анализа

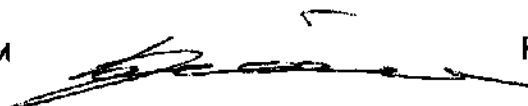
Следующие вещества, взятые в указанных концентрациях, при смешении с образцами кала не оказывали никакого влияния на результаты анализа: сульфат бария (5% масс./масс.), лоперамид (имодиум 5% масс./масс.), Пепто-бисмол (5% об./масс.), муцин (5% масс./масс.), заменитель сахара (5% об./масс.), кровь человека (5% об./масс.), стеариновая кислота/пальмитиновая кислота (смесь 1:1, 40% масс./масс.), метронидазол (0,5) раствор для инъекций (5% об./масс.), диклофенак (0,00263% об./масс.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«21» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для определения энтамебы гистолитика
(RIDA® QUICK Entamoeba)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Entamoeba

Иммунохроматографический экспресс-тест для качественного *in vitro* определения антигенов *Entamoeba histolytica sensu lato* (дизентерийная амеба) в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. ВВЕДЕНИЕ

Заражению *Entamoeba histolytica sensu lato* ежегодно подвергаются до 500 миллионов человек. Молекулярно-генетические исследования показали, что простейшие, идентифицированные обычными диагностическими методами как *Entamoeba histolytica* (дизентерийная амеба), на самом деле включают в себя два морфологически неотличимых вида: патогенные *Entamoeba histolytica sensu stricto* и, согласно современному уровню знаний, непатогенные *Entamoeba dispar*. Около 90% случаев инфекции *Entamoeba* вызвано *E. dispar*. Но именно *E. histolytica* является причиной заболевания амебными колитами и абсцессами печени 40 – 50 миллионов людей, причем 80 000 из них – со смертельным исходом.

Жизненный цикл энтамебы относительно прост. Инфекция попадает в организм человека через рот при проглатывании четырехядерных цист. Из этих цист в тонком кишечнике развивается одноклеточная вегетативная форма паразита. Этот трофозоит (мелкая форма, *forma minuta*) размножается и дифференцируется главным образом в толстом кишечнике. Принято считать, что процесс инцистирования запускается под воздействием среды нижнего отдела толстой кишки. Трофозоиты, помимо цист, обнаруживаются в кале лишь в том случае, если он быстро проходит по кишечному тракту.

Клинические симптомы амебиаза появляются при проникновении паразитов из полости кишечника в слизистую оболочку толстой кишки. В это время часто обнаруживаются трофозоиты с фагоцитированными эритроцитами. Благодаря своим размерам эти трофозоиты описаны как большая вегетативная форма (*forma magna*). В результате инвазии амебы в слизистую оболочку кишки развиваются диарея, дизентерия и даже амебиаз. Если произошло расселение амебы в организме, могут возникнуть дальнейшие осложнения: абсцессы печени, легких или даже, в редких случаях, мозга. При отсутствии лечения это может привести к гибели человека.

Клинические симптомы острой кишечной формы амебиаза – спазмы кишечника с тошнотой и частыми поносами с кровью и слизью в кале. Острая стадия заболевания может перейти в хроническую с редкими поносами, чередующимися с запорами, болями в области живота, тошнотой и рвотой. Описаны также случаи отсутствия симптомов у зараженных людей, несмотря на секрецию цист.

Примерно у 10% людей с острой амебной дизентерией развиваются внекишечные осложнения, такие как абсцесс печени или заболевания других органов. В случае внекишечного амебиаза необходимо серологическое определение антител.

С развитием техники микроскопии, позволившей выявлять цисты и трофозоиты в кале, стала возможной диагностика кишечного амебиаза. Поскольку содержание паразитов может быть очень небольшим, считается, что чувствительность этого метода при исследовании одного образца кала составляет около 75%, даже если анализ проводит опытный персонал. К тому же существует опасность спутать энтамебу с эпителиальными клетками кишечника, гранулоцитами, макрофагами и грибами.

Значительный прогресс был достигнут с внедрением чувствительных иммунологических методов исследования, использующих специфические антитела к антигенам *Entamoeba*. Таким образом, диагностика становится независимой от субъективных оценок и более чувствительной, поскольку идентификация больше не основывается на морфологических признаках. Выработка антител вызывается только

инвазивной формой энтамебы. Поскольку при появлении первых клинических симптомов обычно уже выявляются специфические антитела, их определение может быть использовано для идентификации *Entamoeba histolytica*. Кроме того, анализ позволяет проводить дифференциацию между кишечной и внекишечной формами амебиаза по величине титра, что существенно для выбора метода лечения.

Иммунохроматографический экспресс-тест для обнаружения антигенов *Entamoeba histolytica* в образцах кала является полезной альтернативой микроскопическому исследованию. Этот тест, основанный на использовании моноклональных антител, обладает той же чувствительностью и специфичностью, что и микроскопия, не требует от персонала владения микробиологическими методами, быстр и прост в исполнении.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Entamoeba – одностадийный иммунохроматографический тест, в котором используются пара специфичных к антигенам *Entamoeba* антител: связанные с окрашенными латексными частицами и иммобилизованные на мембране. Вначале образец кала суспендируют в буфере для экстракции, затем проводят процедуру осаждения. Аликвоту супернатанта без примесей образца вносят в окошко тестового стрипа. В случае присутствия в образце антигенов они взаимодействуют со специфическими антителами на поверхности частиц латекса, в результате чего образуется комплекс «антиген – антитело – латексная частица». Эти комплексы мигрируют вдоль мембраны до тестовой зоны, где взаимодействуют с иммобилизованными антителами и формируют окрашенную полосу.

3. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Cassette	Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)	20 шт.
Diluent	Буфер для экстракции, содержит 0,1% азид натрия готов к использованию	26 мл
Pipet	Одноразовые пипетки (в упаковке)	25 шт.
Инструкция по применению		

4. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты набора необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется. Если индивидуальная упаковка повреждена, использовать тест-кассету нельзя, так как ее пригодность для выполнения анализа не может быть гарантирована.

5. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для приготовления суспензии образцов кала
- Вортекс
- Пипетка на 200 -1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностики *in vitro*.

- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавировать при 121°C не менее 1 часа.

7. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения (более трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить и прогреть до комнатной температуры. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 50 мг).

8. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

8.1 Общие замечания

Перед проведением анализа выдержите реагенты и тест-кассеты некоторое время при комнатной температуре (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа. Не выливайте реагенты обратно во флаконы во избежание контаминации.

8.2 Подготовка образцов

Внесите 1 мл буфера для экстракции **Diluent** в подходящую маркированную пробирку.

Наберите в одноразовую пипетку **Pipet** 100 мкл (чуть выше уровня второго утолщения) жидкого кала и суспендируйте его в буфере для экстракции. Если кал твердый, отберите эквивалентное количество (объем величиной с горошину около 50 мг) с помощью шпателя. Гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его из пипетки или тщательно перемешивая на Вортексе, чтобы добиться хорошего диспергирования образца. Оставьте суспензию по крайней мере на 3 мин, пока частицы не осядут, а супернатант не станет прозрачным.

(Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

8.3 Проведение анализа

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли (или дозатором 200 мкл) супернатанта суспензии образца в круглое окошко тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью в пипетку не попали твердые частицы; если это произошло, удалите их до внесения образца. Попадание в окошко частиц может затруднить процесс прохождения пробы через реакционную зону. Через 5 минут проведите учет результатов.

9. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;
- не контаминирован ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

10. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

После проведения теста должны появиться максимум две полосы: одна **КРАСНАЯ** тестовая полоса и одна **СИНЯЯ** контрольная полоса.

Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА ЭНТАМЕБЫ:

В окошке кассеты проявляются **КРАСНАЯ** тестовая и одна **СИНЯЯ** контрольная полоса.

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА ЭНТАМЕБЫ:

В окошке кассеты проявляется только **СИНЯЯ** контрольная полоса.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Ни одной полосы не наблюдается или наблюдается появление других, отличных от вышеописанных, комбинаций цветовых полос. Любые окрашенные линии, которые появляются позже, чем через 5 мин, не имеют диагностического значения.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Entamoeba предназначен для определения антигенов *Entamoeba histolytica* (sensu lato) в образцах кала. Зависимости между интенсивностью окрашивания полос и выраженностью клинической картины не существует. Результаты анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с данными клинического обследования.

Положительные результаты данного теста не исключает присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия инфекции. Это объясняется пульсирующим характером экскреции патогенов или слишком малым их содержанием в образце. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

Избыток используемого образца может стать причиной появления темных полос вместо ожидаемых специфически окрашенных. Эти полосы не имеют диагностического значения. В этом случае необходимо повторить тест с меньшим количеством образца или сделать разведение супернатанта ранее приготовленной суспензии; процедуру анализа проводят по той же схеме согласно настоящей инструкции.

12. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

12.1 Сравнительные исследования

Чувствительность и специфичность теста RIDA® QUICK Entamoeba составляют 84,8% и 87,4% соответственно. Проявляющиеся в RIDA® QUICK Entamoeba тестовые полосы, специфичные для *Entamoeba histolytica*, проявляются для этих же сывороток и в соответствующих комбинированных тестах (N1722 RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba, тест-полоски, и N1723 RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba, тест-кассеты).

12.2 Перекрестная реактивность

Для RIDA® QUICK Entamoeba перекрестная реакция не была обнаружена со следующими видами возбудителей кишечных инфекций:

Entamoeba coli
Blastocystis hominis
Chilomastix mesnili
Endolimax nana
Entamoeba nana
Entamoeba hartmannii
Hymenolepis nana
Isospora belli
Isospora felis
Jodamoeba buetschlii

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции

К.И. Бланк

Всего пронумеровано,
прошнуровано и скреплено
печатью 2 листов.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.М. Прищепа

«21» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Набор реагентов для определения криптоспоридий, лямблий и энтамебы гистолитика
(RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)**

RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi

Иммунохроматографический экспресс-тест для качественного *in vitro* определения антигенов *Cryptosporidium parvum* и/или *Giardia lamblia* и/или *Entamoeba histolytica sensu lato* (дизентерийная амеба) в образцах кала.

Набор рассчитан на 20 определений

1. ВВЕДЕНИЕ

Giardia lamblia относится к жгутиковым простейшим, обитающим в кишечнике; вне организма хозяина они живут недолго. Заражение происходит при попадании в организм высокоинфекционных цист с пищей или едой. Из-за повсеместного распространения этот организм часто является причиной хронической диареи, особенно диареи путешественников. Обычно лямблиозы распространены в общественных учреждениях и слоях населения с низким уровнем личной гигиены, где основным путем передачи является фекально-оральный. Этот путь передачи наблюдают среди детей в детских садах, а также среди гомосексуалистов и заключенных. Заболевание также может передаваться от детей их родителям. В отличие от маленьких, у детей старше 7 лет заболевание может протекать бессимптомно, однако они выделяют во внешнюю среду цисты и могут служить источником заражения других людей. Лямблиоз характеризуется острой или хронической диареей. Инкубационный период составляет от 3 до 42 дней. В прошлом для диагностики лямблиоза чаще всего проводили исследование кала на наличие цист с помощью микроскопии, а этот метод требует наличия квалифицированного персонала. Кроме того, исследование необходимо проводить длительное время из-за периодического характера выделения паразита.

Криптоспоридиоз – инфекция, вызываемая *Cryptosporidium parvum* – простейшими класса криптоспоридий, безжгутиковыми организмами, содержащими споры внутри ооцист. Они инфицируют желудочно-кишечный тракт млекопитающих и для домашних животных, в особенности телят, являются одним из наиболее важных паразитов, вызывая развитие энтерита. Однако криптоспоридии обнаруживаются и у людей, причем случаи инфекции выявляются во многих странах гораздо чаще, чем ранее предполагалось.

Криптоспоридии эндемичны для развивающихся стран тропического региона, где они часто вызывают эпидемическую диарею у детей. Течение заболевания связано с состоянием иммунной системы. У больных с хорошей иммунореактивностью инфекционный гастроэнтерит, вызванный данным паразитом, обычно самокупируется. Диарея продолжается от 3 до 10 дней и может сопровождаться симптомами, сходными с симптомами лямблиоза: высокой температурой, тошнотой и болями в области живота. Более тяжелые симптомы и последствия наблюдаются у пациентов с ослабленной иммунной системой; в этом случае диарея может продолжаться долго, протекать очень тяжело и приводить к угрожающему жизни обезвоживанию организма. Инфекция передается от животных к человеку через зараженную воду, а также распространяется от человека к человеку. Особенно подвержены опасности дети в детских учреждениях, мужчины-гомосексуалисты и ВИЧ-инфицированные, а также пациенты и сотрудники учреждений социальной защиты.

В прошлом диагностику криптоспоридиоза чаще всего проводили с помощью микроскопического исследования кала на наличие ооцист или образцов биоптата тонкого кишечника — метода, требующего наличия квалифицированного персонала.

Заражению *Entamoeba histolytica sensu lato* ежегодно подвергаются до 500 миллионов человек. Молекулярно-генетические исследования показали, что простейшие, идентифицированные обычными диагностическими методами как *Entamoeba histolytica* (дизентерийная амеба), на самом деле включают в себя два морфологически неотличимых вида: патогенные *Entamoeba histolytica sensu stricto* и, согласно современному уровню знаний, непатогенные *Entamoeba dispar*. Около 90% случаев инфекции *Entamoeba* вызвано *E. dispar*. Но именно *E. histolytica* является причиной заболевания амебными колитами и абсцессами печени 40 – 50 миллионов людей, причем 80 000 из них – со смертельным исходом.

Жизненный цикл энтамебы относительно прост. Инфекция попадает в организм человека через рот при проглатывании четырехядерных цист. Из этих цист в тонком кишечнике развивается одноядерная вегетативная форма паразита. Этот трофозоит (мелкая форма, *forma minuta*) размножается и дифференцируется главным образом в толстом кишечнике. Принято считать, что процесс инцистирования запускается под воздействием среды нижнего отдела толстой кишки. Трофозоиты, помимо цист, обнаруживаются в кале лишь в том случае, если он быстро проходит по кишечному тракту.

Клинические симптомы амебиаза появляются при проникновении паразитов из полости кишечника в слизистую оболочку толстой кишки. В это время часто обнаруживаются трофозоиты с фагоцитированными эритроцитами. Благодаря своим размерам эти трофозоиты описаны как большая вегетативная форма (*forma magna*). В результате инвазии амебы в слизистую оболочку кишки развиваются диарея, дизентерия и даже амебоз. Если произошло расселение амебы в организме, могут возникнуть дальнейшие осложнения: абсцессы печени, легких или даже, в редких случаях, мозга. При отсутствии лечения это может привести к гибели человека.

Клинические симптомы острой кишечной формы амебиаза – спазмы кишечника с тошнотой и частыми поносами с кровью и слизью в кале. Острая стадия заболевания может перейти в хроническую с редкими поносами, чередующимися с запорами, болями в области живота, тошнотой и рвотой. Описаны также случаи отсутствия симптомов у зараженных людей, несмотря на секрецию цист.

Примерно у 10% людей с острой амебной дизентерией развиваются внекишечные осложнения, такие как абсцесс печени или заболевания других органов. В случае внекишечного амебиаза необходимо серологическое определение антител.

С развитием техники микроскопии, позволившей выявлять цисты и трофозоиты в кале, стала возможной диагностика кишечного амебиаза. Поскольку содержание паразитов может быть очень небольшим, считается, что чувствительность этого метода при исследовании одного образца кала составляет около 75%, даже если анализ проводит опытный персонал. К тому же существует опасность спутать энтамебу с эпителиальными клетками кишечника, гранулоцитами, макрофагами и грибами.

Значительный прогресс был достигнут с внедрением чувствительных иммунологических методов исследования, использующих специфичные антитела к антигенам *Entamoeba*. Таким образом, диагностика становится независимой от субъективных оценок и более чувствительной, поскольку идентификация больше не основывается на морфологических признаках. Выработка антител вызывается только инвазивной формой энтамебы. Поскольку при появлении первых клинических симптомов обычно уже выявляются специфические антитела, их определение может быть использовано для идентификации *Entamoeba histolytica*. Кроме того, анализ позволяет проводить дифференциацию между кишечной и внекишечной формами амебиаза по величине титра, что существенно для выбора метода лечения.

Иммунохроматографический экспресс-тест для обнаружения антигенов *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* и *Cryptosporidium parvum* в образцах кала является полезной альтернативой микроскопическому исследованию. Этот тест, основанный на использовании моноклональных антител, обладает той же чувствительностью и специфичностью, что и микроскопия, не требует от персонала владения микробиологическими методами, быстр и прост в исполнении.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi – одностадийный иммунохроматографический тест, в котором используются специфичные к каждому из трех видов возбудителей антитела, связанные с окрашенными латексными частицами, и другие антитела, иммобилизованные на мембране. Вначале образец кала суспендируют в буфере для экстракции, затем проводят процедуру осаждения. Аликвоту супернатанта без примесей образца вносят в окошко тестового стрипа. В случае присутствия в образце искоемых антигенов при взаимодействии с конъюгатом специфических антител и окрашенных латексных частиц образуется комплекс «антиген – конъюгат антител». Эти комплексы мигрируют вдоль мембраны до тестовой зоны, где взаимодействуют с иммобилизованными антителами и формируют окрашенные полосы. В зависимости от типа патогена, присутствующего в образце, могут образовываться зеленая (*Entamoeba*) и/или красная (*Giardia*) и/или голубая (*Cryptosporidium*) полосы.

3. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Cassette	Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)	20 шт.
Diluent	Буфер для экстракции, содержит 0,1% азид натрия; готов к использованию	26 мл
Pipet	Одноразовые пипетки (в упаковке)	25 шт.
	Инструкция по применению	

4. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты набора необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется. Если индивидуальная упаковка повреждена, использовать тест-кассету нельзя, так как ее пригодность для выполнения анализа не может быть гарантирована.

5. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для приготовления суспензии образцов кала
- Вортекс
- Пипетка на 200 -1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностики *in vitro*.

- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавировать при 121°C не менее 1 часа.

7. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры и хранить до выполнения теста при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения (свыше трех дней) образцы следует заморозить и хранить при -20°C. В этом случае перед проведением анализа образцы необходимо разморозить и прогреть до комнатной температуры. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 50 мг).

8. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

8.1 Общие замечания

Перед проведением анализа выдержите реагенты и тест-кассеты некоторое время при комнатной температуре (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа. Не выливайте реагенты обратно во флаконы во избежание контаминации.

8.2 Подготовка образцов

Внесите 1 мл буфера для экстракции **Diluent** в подходящую маркированную пробирку.

Наберите в одноразовую пипетку **Pipet** 100 мкл (чуть выше уровня второго утолщения) жидкого кала и суспендируйте его в буфере для экстракции. Если кал твердый, отберите эквивалентное количество (объем величиной с горошину около 50 мг) с помощью шпателя. Гомогенизируйте образец, набирая и выпуская его из пипетки или тщательно перемешивая на Вортексе, чтобы добиться хорошего диспергирования образца. Оставьте суспензию по крайней мере на 3 мин, пока частицы не осядут, а супернатант не станет прозрачным.

(Примечание от АНАЛИТИКИ: для осаждения суспензии можно использовать центрифугирование при 5000 об/мин (приблизительно 2300-2500 g) в течение 5 минут.)

8.3 Проведение анализа

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли (или дозатором 200 мкл) супернатанта суспензии образца в круглое окошко тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью в пипетку не попали твердые частицы; если это произошло, удалите их до внесения образца. Попадание в окошко частиц может затруднить процесс прохождения пробы через реакционную зону. Через 10 минут проведите учет результатов.

9. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;
- не контаминирован ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

10. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

После проведения теста должны появиться максимум четыре полосы: одна голубая («1»=Тестовая полоса 1 – *Cryptosporidium parvum*), одна красная («2»=Тестовая полоса 2 – *Giardia lamblia*), одна зеленая («3»=Тестовая полоса 3 – *Entamoeba histolytica*) и одна малиновая полоса (C= Контрольная полоса).

Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Положительный результат на Криптоспоридии: проявляются ГОЛУБАЯ тестовая полоса и МАЛИНОВАЯ контрольная полоса.

Положительный результат на Лямблии: проявляются КРАСНАЯ тестовая полоса и МАЛИНОВАЯ контрольная полоса.

Положительный результат на Энтамебы: проявляются ЗЕЛЕНАЯ тестовая полоса и МАЛИНОВАЯ контрольная полоса.

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

В окошке кассеты появляется только МАЛИНОВАЯ контрольная полоса.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Не наблюдается ни одной полосы или наблюдается появление других, отличных от вышеописанных, комбинаций цветовых полос. Любые окрашенные линии, которые появляются позже, чем через 10 мин, не имеют диагностического значения.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi предназначен для определения антигенов *Cryptosporidium parvum* и/или *Giardia lamblia* и/или *Entamoeba histolytica (sensu lato)* в образцах кала. Зависимости между интенсивностью окрашивания полос и выраженностью клинической картины не существует. Результаты анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с данными клинического обследования.

Положительные результаты данного теста не исключают присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия инфекции. Это объясняется пульсирующим характером экскреции патогенов или слишком малым их содержанием в образце. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

Избыток используемого образца может стать причиной появления темных полос вместо ожидаемых специфически окрашенных. Эти полосы не имеют диагностического значения. В этом случае необходимо повторить тест с меньшим количеством образца или сделать разведение супернатанта ранее приготовленной суспензии; процедуру анализа проводят по той же схеме согласно настоящей инструкции.

12. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

12.1 Сравнительные исследования

В многоцентровом исследовании в 5 различных учреждениях протестированы 252 пробы стула, которые замораживали и исследовали разными методами, в том числе с помощью теста RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi. Результаты представлены в таблице. Приведены средние показатели чувствительности и специфичности.

Референсный метод	Образцы				Полосы, специфичные для паразитов					
	Всего	Положит.	Отрицат.		Криптоспоридии		Жиардии		Энтамеба	
			никакой	другой	Чувств.	Спец.	Чувств.	Спец.	Чувств.	Спец.
Микроскопия	28	28	0	0	87,5	-	80,0	-	60,0	-
Микроскопия	63	32	20	11	100,0	100,0	100,0	100,0	-	100,0
Микроскопия	32	12	15	5	-	-	88,9	100,0	100,0	80,0
Микроскопия/ПЦР	49	35	5	9	66,7	79,9	94,4	100,0	79,2	76,0
ИФА	80	63	17	0	77,8	100,0	96,3	98,1	100,0	93,6
Общее	252	170	57	25	83,0%	93,3%	91,9%	99,5%	84,8%	87,4%

12.2 Перекрестная реактивность

Для экспресс-теста RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi перекрестная реакция не была обнаружена со следующими видами возбудителей кишечных инфекций:

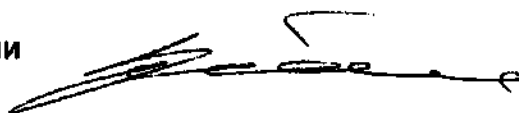
Entamoeba coli
Blastocystis hominis
Chilomastix mesnili
Endolimax nana
Entamoeba nana
Entamoeba hartmannii
Hymenolepsis nana
Isospora belli
Isospora felis
Jodamoeba buetschlii

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«21» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для определения
веротоксина и энтерогеморрагических эшерихий коли O157
(RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi

Иммунохроматографический экспресс-тест для качественного определения *in vitro* веротоксинов (шигатоксинов) и/или антигенов *E. coli* серовара O157 в образцах кала, обогащенных с помощью бульона mTSB.

Набор рассчитан на 20 определений

1. ВВЕДЕНИЕ

Шигатоксины (Stx) считаются основным фактором вирулентности энтерогеморрагических *Escherichia coli* (EHEC), которые являются серьезными патогенами и вызывают развитие у людей соответствующих заболеваний. Симптомы этих заболеваний могут варьировать от диареи до опасного для жизни гемолитического уремического синдрома (HUS), который считается одной из главных причин острой почечной недостаточности у детей. Существует несколько серогрупп EHEC, наиболее распространенная из них O157 – возбудитель около 70-90% всех случаев инфекций EHEC. Быстрое выявление данного патогена крайне важно для проведения надлежащей терапии. С помощью набора RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi возможно быстрое (в течение одного дня) одновременное определение наличия шигатоксинов и антигенов EHEC серогруппы O157 в супернатанте культуры, полученной из образца кала пациента, обогащенного с помощью бульона mTSB.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi – одностадийный иммунохроматографический тест, в котором используется пара специфических антител к каждому из двух определяемых антигенов: связанные с окрашенными латексными частицами (антитела к шигатоксину – с красными, антитела к O157 – с зелеными) и иммобилизованные на мембране в тестовой зоне. Вначале образец кала помещают в бульон для обогащения mTSB, содержащий митомицин C, и инкубируют при 37°C в течение 18-24 часов для того, чтобы увеличить количество энтерогеморрагических *Escherichia coli* и индуцировать синтез шигатоксина. Затем бульон центрифугируют, отбирают аликвоту супернатанта и разводят ее 1:1 буфером для экстракции образцов. Полученную смесь вносят в окошко тестового устройства. В случае присутствия в образце антигенов они взаимодействуют со специфическими антителами на поверхности частиц латекса, в результате чего образуются комплексы «антиген - антитела - латексная частица». Эти комплексы мигрируют вдоль мембраны до тестовой зоны, где взаимодействуют с иммобилизованными антителами и формируют окрашенные полосы.

В зависимости от антигена, присутствующего в образце, могут образовываться красная (шигатоксин) и/или зеленая (*E. coli* O157) полосы. При постановке теста обязательно должна появляться синяя контрольная полоса.

3. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор включает реагенты, достаточные для выполнения 20 определений.

Cassette

Тест-кассеты (каждая в индивидуальной упаковке)

20 шт.

DiluentБуфер для экстракции, содержит 0,1% азид натрия;
готов к использованию

18 мл



Одноразовые пипетки (в упаковке)

25 шт.

Инструкция по применению

4. ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты набора необходимо хранить при температуре 2-30°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество набора не гарантируется. Если индивидуальная упаковка повреждена, использовать тест-кассету нельзя, так как ее пригодность для выполнения анализа не может быть гарантирована.

5. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пробирки для приготовления суспензии образцов кала
- Вортекс
- Пипетка на 200 -1000 мкл
- Контейнер для утилизации отходов, содержащий 0,5% раствор гипохлорита
- Бульон для обогащения (mTSB + Митомицин С; например, RIDA® Anreicherungsbouillon / Enrichment Broth: Z1003)
- Центрифуга

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностики *in vitro*.

- Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.
- Буфер для экстракции содержит азид натрия. Необходимо исключить контакт с кожей и слизистыми.
- Не пипетируйте ртом образцы или реагенты; необходимо предотвращать их контакт с кожей или слизистыми. При работе с образцами следует надевать одноразовые перчатки, после проведения анализа – вымыть руки. Не курите, не ешьте и не пейте в месте проведения анализа.
- Все реагенты и материалы, имевшие контакт с потенциально инфицированными образцами, необходимо обработать обеззараживающими веществами или проавтоклавить при 121°C не менее 1 часа.

7. СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Если образцы кала, которые будут тестироваться на шигатоксин или *E. coli* O157, не используются сразу, то их необходимо хранить следующим образом:

- до 24 часов при комнатной температуре;
- до 72 часов при 2-8°C

Не рекомендуется замораживать образцы, так как в результате этого бактерии разрушаются, теряют способность расти и могут вообще не размножиться в бульоне для обогащения.

Образцы кала необходимо собрать в чистые контейнеры (без каких-либо добавок) и хранить при температуре 2-8°C.

При использовании ректальных мазков проследите, чтобы образец содержал необходимое для проведения теста количество кала (около 100 мг).

При прослеживании возможных контактов заболевших для выявления асимптоматических носителей необходимо брать образцы кала даже у тех, кто имел неявные кратковременные контакты.

8. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ**8.1 Общие замечания**

Перед проведением анализа реагенты и тест-кассеты необходимо довести до комнатной температуры (20-25°C). Тест-кассеты необходимо извлечь из упаковки непосредственно перед использованием. Тест-кассеты можно использовать только однократно. Они не должны подвергаться воздействию прямых солнечных лучей.

8.2 Подготовка образцов

Сначала внесите 100 мкл жидкого кала или эквивалентное количество (50-100 мг) твердого кала в 4 мл бульона для обогащения mTSB с митомицином С (RIDA® Anreicherungsbouillon: Z1003) и инкубируйте на шейкере (около 120-160 об/мин) при 37°C и достаточной аэрации в течение 18-24 часов. Для перемешивания подходят также горизонтальный шейкер и ротационный смеситель. После инкубации центрифугируйте бульон при 3000 об/мин (около 1500g) в течение 15 мин. Разведите аликвоту супернатанта буфером для экстракции из набора в соотношении 1:1 и затем перенесите полученную смесь в чистую тестовую пробирку или чистую ячейку микропланшета.

8.3 Проведение анализа

Достаньте тест-кассету **Cassette** из упаковки и поместите на ровную поверхность. Внесите дозатором 200 мкл или одноразовой пипеткой **Pipet** 4 капли супернатанта подготовленного образца в круглое окошко тестового устройства. Следите за тем, чтобы вместе с жидкостью не попадали твердые частицы, а если они попали, то удалить их до внесения образца. Если в окошко попадут твердые частицы, это может затруднить процесс прохождения пробы через реакционную зону. Через 15 минут проведите учет результатов.

9. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА – показатель пригодности реагентов

Результаты теста можно интерпретировать, только если тест-кассета была вскрыта непосредственно перед внесением в нее образца и на мембране нет цветных пятен или полос. После проведения анализа на мембране обязательно должна быть видна малиновая контрольная полоса. Если ее нет, следует повторить исследование, проверив предварительно:

- не истек ли срок годности используемых реагентов;
- точно ли выполнена процедура исследования;
- не загрязнен ли буфер для экстракции.

Если контрольная полоса не появляется и при повторном исследовании, свяжитесь с поставщиком набора.

10. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

После проведения теста в тестовом окне должны появиться максимум три полосы в следующем порядке: **ЗЕЛЕНАЯ** тестовая полоса (T_1), **КРАСНАЯ** тестовая полоса (T_2) и **СИНЯЯ** контрольная полоса (C).

Если контрольная полоса не появилась, тест считается проведенным неправильно и его результаты не подлежат интерпретации!

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В тестовом окне рядом с буквой **C** появилась только **СИНЯЯ** контрольная полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА *E. COLI* O157

В дополнение к **СИНЕЙ** контрольной полосе в окошке кассеты рядом с буквой T_1 появляется **ЗЕЛЕНАЯ** тестовая полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА ШИГАТОКСИН

В дополнение к **СИНЕЙ** контрольной полосе в окошке кассеты рядом с буквой T_2 появляется **КРАСНАЯ** тестовая полоса.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ НА ШИГАТОКСИН И *E. COLI* O157

Появляются все три полосы: **СИНЯЯ**, **КРАСНАЯ** и **ЗЕЛЕНАЯ**.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Ни одной полосы не наблюдается или наблюдается появление других, отличных от вышеописанных, комбинаций цветовых полос. Любые окрашенные линии, которые появляются через 15 мин, не имеют диагностического значения.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi предназначен для определения антигенов *E. coli* серовара O157 или шигатоксинов в обогащенных образцах кала. Зависимости между интенсивностью окрашивания полос и выраженностью клинической картины не существует. Результаты анализа всегда должны интерпретироваться в совокупности с данными клинического обследования.

Положительные результаты данного теста не исключают присутствия других патогенов.

Отрицательный результат не гарантирует отсутствия инфекции ЕНЕС или шигатоксинов. Это объясняется, возможно, слишком малым их содержанием в образце. Если больной анемичен или, несмотря на отрицательный результат, есть основания подозревать у него наличие инфекции, следует провести анализ другого образца кала этого больного через четыре недели.

12. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

12.1 Качество теста

С помощью набора RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi были проведены исследования 159 образцов из контрольной лаборатории гемолитического уремического синдрома (HUS) в Институте Гигиены Университета г.Мюнстер. Эта панель образцов включала в себя 51 референсный штамм ЕНЕС и представляла широкий спектр из 38 различных серотипов. Были также представлены все основные типы шигатоксинов, патогенных для человека, вплоть до подтипа Stx 2g, патогенного для животных. Исследовали 96 образцов кала и 8 изолятов из этих образцов, а также 4 изолята от животных. Результаты, полученные с

помощью данного набора, сравнивали с результатами методик ПЦР для определения генов, кодирующих Stx, и гена, специфического для O157. Тест на цитотоксичность с использованием чувствительных клеток также использовался для подтверждения продукции шигатоксинов. Результаты приведены в Таблице 1.

Таблица 1. Сравнение результатов набора RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi и специфических ПЦР методов для определения генов кодирующих Stx и гена *stxA* специфического для серогруппы O157.

RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi					
		Stx 1/ Stx 2		O157	
		+	–	+	–
ПЦР	+	68	12	20	2
	–	1	78	2	135

Чувствительность:	85,0%	90,9%
Специфичность:	98,7%	98,5%
Положительное прогнозируемое значение:	98,6%	90,9%
Отрицательное прогнозируемое значение:	86,7%	98,5%
Точность	91,8%	97,5%

12.2 Аналитическая чувствительность

Из обоих типов токсинов (Stx 1 и Stx 2) были приготовлены серийные разведения для определения предела обнаружения набора RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi. Результаты представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Предел обнаружения для Stx 1 и Stx 2

Чистый Stx 1 нг/мл	Результат	Чистый Stx 2 нг/мл	Результат
50	++++	50	++++
40	++++	40	++++
30	+++	30	++++
20	+++	20	++++
10	++	10	++++
8	++	8	+++
6	++	5	+++
4	+	4	++
2	(+)	2	++
1	-	1	+
0,5	-	0,5	(+)
0,1	-	0,1	-

* Предел обнаружения.

12.3 Специфичность

Для RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi не была обнаружена перекрестная реакция с другими серотипами *E. coli* и другими кишечными бактериями из семейства *Enterobacteriaceae*, кроме группы N сальмонелл, у которых также имеется поверхностный антиген O157. Этот поверхностный антиген иногда обнаруживается у некоторых штаммов вида *Citrobacter*, поэтому если появилась только O157-линия, рекомендуется провести идентификацию после культивирования. С другой стороны, изоляты *E. coli* O157, которые потеряли способность продуцировать шигатоксины, встречаются крайне редко (потеря флага).
Список литературы

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции

К.И. Бланк

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«28» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для обогащения образцов
(RIDA® Anreicherungsbouillon)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® Anreicherungsbouillon

Набор реагентов для обогащения исследуемых образцов энтерогеморрагическими бактериями *E. coli*, продуцирующими шигатоксины (веротоксины).

Набор рассчитан на 25 определений

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов RIDA® Anreicherungsbouillon предназначен для обогащения образцов проб, приготовленных из исследуемых образцов кала, бактериями *E. coli*, продуцирующими шигатоксины.

2. ВВЕДЕНИЕ

Одной из характеристик патогенных для человека энтерогеморрагических бактерий, относящихся к виду *Escherichia coli*, является то, что они всегда продуцируют так называемые шигатоксины или веротоксины. Оба названия используются как синонимы, так как они происходят, с одной стороны, из-за большого сходства с токсином шигеллы (также часто используется термин «шига-подобный токсин»), а с другой стороны, из-за их токсичности по отношению к клеткам линии Vero. Поэтому сейчас термины «продуцирующие шигатоксин *E. coli*» и «продуцирующие веротоксин *E. coli*» (STEC/VTEC) объединяют общим названием энтерогеморрагические *E. coli* (EHEC). Эти бактерии вызывают серьезное заболевание у людей.

В соответствии с антигенной структурой EHEC подразделяются на различные серовары. Одни серовары обнаруживаются у больных гораздо чаще, чем другие. Кроме того, различные серовары обладают различными маркерами вирулентности, наиболее важными из которых, кроме шигатоксинов Stx 1 и Stx 2, считаются интимин и энтерогемолизин.

Генетическая информация, кодирующая молекулу шигатоксина, расположена в бактериофаге. Экспрессия происходит после интеграции фага в хромосому бактерии. У различных штаммов энтеробактерий интенсивность образования шигатоксинов значительно варьируется, поэтому определять присутствие этих токсинов прямо в образцах стула пациентов, пораженных энтеробактериями EHEC, не рекомендуется. Вначале необходимо провести обогащение патогена, находящегося в образце кала пациента.

Подходящий для обогащения раствор должен, с одной стороны, активировать образование шигатоксинов, а с другой – содержать факторы, селективные для роста *E. coli*. Соотношение между энтерогеморрагическими сероварами и *E. coli*, находящимися в симбиозе, в кишечной флоре составляет около 1:200. В связи с этим основным условием для успешного скрининга является эффективный метод обогащения, который бы индуцировал синтез шигатоксина энтерогеморрагическими *E. coli*.

Состав раствора для обогащения RIDA® Anreicherungsbouillon, описанного в настоящей инструкции, отвечает этим требованиям.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор реагентов RIDA® Anreicherungsbouillon содержит соли желчных кислот, поэтому он подавляет рост грамположительных бактерий и тем самым усиливает рост *E. coli*. Добавление митомицина C повышает образование шигатоксина, в частности, из-за индукции профага лямбда в бактериальной хромосоме и высвобождения токсина при лизисе клеток. В результате даже серовары с низкой продукцией токсина могут быть выявлены при исследовании супернатанта обогащенной культуры с помощью различных методов, например, ИФА или иммунохроматографии. Это в особенности важно для пациентов с

гемолитическим уремическим синдромом (HUS), у которых часто в стуле можно обнаружить лишь небольшое количество энтерогеморрагических *E. coli*.

4. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор содержит все реагенты, необходимые для выполнения 25 определений:

Tube	Пробирки с 4 мл раствора, содержащие mTSB и митомицин С	25 шт.
	Инструкция по применению	

5. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

5.1. Реагенты

- Буфер PBS или физиологический раствор (по выбору)
- Раствор для утилизации отходов (см. раздел 10.1)

5.2. Оборудование

- Одноразовые пипетки (Кат. № Z 0001)
- Микропипетки на 100 мкл
- Тонкие ватные тампоны
- Горизонтальный шейкер или ротационный смеситель со штативом для пробирок (16,5 x 105 мм)
- Термостат на 37°C

6. ХРАНИЕНИЕ НАБОРА

Пробирки с бульоном необходимо хранить при 2-8°C и использовать только до истечения срока годности, указанного на этикетке набора. После истечения срока годности качество набора не гарантируется.

Необходимо исключить микробное загрязнение. Раствор имеет желтоватую окраску и должен быть прозрачным. Видимое помутнение является признаком микробного загрязнения. Такой реагент использовать нельзя, его необходимо утилизировать в соответствии с действующими инструкциями (см. раздел 10.2).

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Проведение анализа требует предварительного обучения персонала лаборатории. При этом необходимо руководствоваться правилами работы в медицинских лабораториях, а также строго следовать инструкции по применению набора.

Реагент содержит митомицин С. Необходимо тщательно избегать его контакта с кожей и слизистыми. В случае такого контакта нужно промыть пораженные места большим количеством воды и сменить одежду, на которую попал раствор.

Материалы (наконечники для пипеток, тампоны), которые находились в контакте с реагентом, необходимо утилизировать так же, как и раствор для обогащения (см. раздел 10.3). Правила утилизации реагента изложены в разделе 10.2.

8. СБОР И ХРАНИЕНИЕ ПРОБ

Если образцы кала, в которых должны определяться веротоксины, не используются сразу, то их необходимо хранить следующим образом:

- до 24 часов при комнатной температуре;
- до 72 часов при 2-8°C.

Не рекомендуется замораживать образцы, так как это приводит к повреждениям бактерий и они теряют способность расти в растворе для обогащения.

9. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для успешного обогащения необходимо точно соблюдать процедуру, описанную ниже, и вносить объемы, указанные в настоящей инструкции. Эта процедура соответствует современному уровню знаний и разработана в тесном сотрудничестве с институтами RKI (Robert-Koch-Institut) и BGIV (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin).

Для анализа необходимо использовать только свежесобранные образцы стула или образцы, которые хранились максимум 3 дня при 2-8°C.

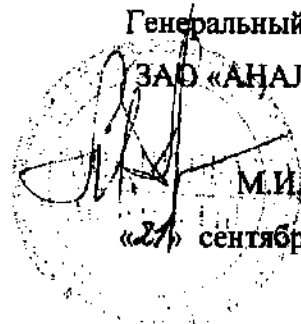
9.1. Образцы жидкого или водянистого стула

100 мкл образца (с помощью одноразовых пипеток, кат. № Z 0001; этот объем соответствует количеству жидкости точно над вторым утоплением пипетки) или тонкий ватный тампон, смоченный в образце, вносят в 4 мл реагента RIDA® Anreicherungsbouillon и слегка встряхивают пробирку, пока весь образец не суспендируется.

9.2. Образцы твердого кала

С помощью шпателя или одноразовой бактериологической петли отбирают 50-100 мг кала (объем небольшой горошины) и суспендируют в 4 мл реагента RIDA® Anreicherungsbouillon. Другим способом эквивалентное количество образца можно отобрать с помощью ватного тампона (предпочтительно в различных местах образца стула) и тщательно суспендировать в 4 мл реагента RIDA® Anreicherungsbouillon.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«21» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Контрольный материал на ротавирус
(RIDA® QUICK Rotavirus Control)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Rotavirus Control**1 флакон × 1,8 мл (на 6 контрольных реакций)****1. НАЗНАЧЕНИЕ**Только для *in vitro* диагностики.

Положительный контроль RIDA® QUICK Rotavirus Control предназначен для использования в качестве контрольного материала, позволяющего проверять работоспособность экспресс-тестов RIDA® QUICK rapid test для определения ротавируса.

2. ВВЕДЕНИЕ

RIDA® QUICK Rotavirus Control — контрольный материал, поставляемый в дополнение к экспресс-тестам линии RIDA® QUICK. Перед использованием положительный контроль, как и все компоненты набора (буфер для экстракции, тест-кассеты или тест-полоски) должны быть прогреты до комнатной температуры (20-25°C). Тест-кассеты / тест-полоски необходимо извлекать из упаковки непосредственно перед использованием. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Положительный контроль RIDA® QUICK Rotavirus Control специфически реагирует с компонентами соответствующего тестового устройства, что приводит к появлению окрашивания тестовых полос, описанных в инструкции к соответствующему набору.

4. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

1 флакон (1,8 мл) Положительного контроля RIDA® QUICK Rotavirus Control.

Содержимого 1 флакона достаточно для проведения до 6 положительных контрольных реакций.

5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- 1) Экспресс-тест линии RIDA® QUICK
- 2) Пробирки
- 3) Вортекс (не обязательно)

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

В состав контроля RIDA® QUICK Rotavirus Control входят только инактивированные антигены. Несмотря на это, к контролю необходимо относиться как к потенциально инфицированному материалу и обращаться с ним в соответствии с действующей официальной инструкцией.

7. РЕАГЕНТЫ И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Контроль RIDA® QUICK Rotavirus Control необходимо хранить при температуре 2-8°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество контрольного материала не может быть гарантировано.

8. ПОКАЗАТЕЛИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ИЛИ ПОРЧИ РЕАГЕНТА

Появление неспецифической окраски или дополнительных полос в тестовой зоне тест-полоски или тест-кассеты может свидетельствовать о нестабильности или порче контрольного материала.

9. ПОДГОТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ

Предварительная подготовка контрольного материала не требуется.

10. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ**10.1 С использованием тест-кассет (N0903 и N1003)**

В круглое окошко тест-кассеты внесите 4 капли (200 мкл) контрольного материала. .

10.2 С использованием тест-полосок (N0902 и N1002)

Внесите в чистую тестовую пробирку 6 капель контрольного материала и погрузите в нее тест-полоску. Убедитесь, что уровень жидкости находится ниже стоп-линии, отмеченной стрелкой.

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

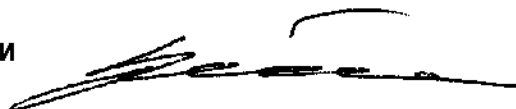
Результаты контрольной постановки с RIDA® QUICK Rotavirus Control должны быть оценены в течение пяти минут после проведения теста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

Если была приготовлена суспензия кала в PBS-буфере (50-100 мг на 1 мл буфера), ее можно использовать следующим образом: 500 мкл суспензии внести в 4 мл реагента RIDA® Anreicherungsbouillon.

9.3 Обогащение культуры

Раствор для обогащения, в который были внесены образцы стула, инкубируют в наклоненных пробирках в течение 18-24 часов при 37°C при перемешивании на шейкере (120-160 об/мин) при достаточной аэрации (пол-оборота запирающейся крышки). Жидкость не должна вытекать из пробирок. Для перемешивания подходят также горизонтальный шейкер и ротационный смеситель.

Не позднее, чем через 24 часа раствор центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 мин.

Для проведения анализа с помощью наборов линии RIDA® QUICK (кат. № N2202 и N2203) смешайте аликвоту супернатанта с буфером для экстракции из вышеприведенных наборов в соотношении 1:1.

Если после положительного результата тестирования методом ИФА материал для подтверждения результатов необходимо послать в независимую лабораторию для исследования методом ПЦР или бактериальной идентификации, нужно провести следующую процедуру:

1. Слить из пробирки оставшийся после центрифугирования супернатант.
2. Удалить осадок с помощью тампона.
3. Внести материал тампона в подходящую транспортную среду (Cary Blair, Stuart или Amies).
4. Отправить (рекомендуется с охлаждением) в специализированную лабораторию для дальнейших анализов.

10. УТИЛИЗАЦИЯ РЕАГЕНТА И МАТЕРИАЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ МИТОМИЦИН С

Так как митомицин С считается канцерогенным соединением, обработку отходов, содержащих митомицин С, и материалов, которые находились в контакте с ним, необходимо проводить в соответствии с действующими правилами обработки опасных материалов.

10.1. Раствор для утилизации отходов

0,5% Wofasteril® (или 0,2% перуксусная кислота) в 5% уксусной кислоте, т.е. 50 мл уксусной кислоты + 5 мл Wofasteril® (или 2 мл перуксусной кислоты) довести до 1 л дистиллированной водой. Хранить при 2-8°C.

Примечание: Wofasteril® поставляется фирмой Kesla Hygiene AG, D-6803 Greppin, Germany.

10.2. Утилизация бульона

Добавьте эквивалентное количество раствора для утилизации отходов к утилизируемому реагенту (например, 4 мл реагента + 4 мл раствора для утилизации отходов), оставьте на ночь при комнатной температуре и затем автоклавируйте при 121°C, в течение по крайней мере 1 часа.

10.3. Утилизация материалов

Наконечники для автопипеток и тампоны можно утилизировать вместе с реагентом, как описано в разделе 10.2.

11. КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным BGVV раствор для обогащения RIDA® Anreicherungsbouillon с добавкой митомицина С по своим качествам превосходит реагенты, не содержащие митомицин, независимо от того, содержат эти среды только антибиотики (новобиоцин, цефсолудин), или только соли желчных кислот, или и то и другое.

В образцах кала пациентов с гемолитическим уремическим синдромом (HUS) добавка митомицина в среднем увеличивала прирост числа бактерий на 37,5%.

При обогащении образцов кала, в которые были искусственно введены известные изоляты-продуценты шигатоксинов, добавка митомицина привела к повышению уровня детекции шигатоксина на 40-50% по сравнению с обогащением без митомицина.

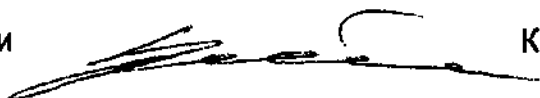
В недавно проведенном исследовании (неопубликованные результаты) было показано, что митомицин обладает слабым уровнем мутагенности, поэтому его использование в высокочувствительном тесте для определения шигатоксина возможно. В настоящее время не существует лучшего (и менее вредного) индуктора высвобождения шигатоксина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

Всего пронумеровано,
прошнуровано и скреплено
печатью 2 листов.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«27» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Контрольный материал на аденовирус
(RIDA® QUICK Adenovirus Control)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Adenovirus Control

1 флакон × 1,8 мл (на 6 контрольных реакций)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Только для *in vitro* диагностики.

Положительный контроль RIDA® QUICK Adenovirus Control предназначен для использования в качестве контрольного материала, позволяющего проверять работоспособность экспресс-тестов RIDA® QUICK rapid test для определения аденовируса.

2. ВВЕДЕНИЕ

RIDA® QUICK Adenovirus Control — контрольный материал, поставляемый в дополнение к экспресс-тестам линии RIDA® QUICK. Перед использованием положительный контроль, как и все компоненты набора (буфер для экстракции, тест-кассеты или тест-полоски) должны быть прогреты до комнатной температуры (20-25°C). Тест-кассеты/тест-полоски необходимо извлекать из упаковки непосредственно перед использованием. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Положительный контроль RIDA® QUICK Adenovirus Control специфически реагируют с компонентами соответствующего тестового устройства, что приводит к развитию окрашивания тестовых полос, описанных в инструкции к соответствующему набору.

4. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

1 флакон (1,8 мл) Положительного контроля RIDA® QUICK Adenovirus Control.

Содержимого 1 флакона достаточно для проведения до 6 положительных контрольных реакций.

5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- 1) Экспресс-тест линии RIDA® QUICK
- 2) Пробирки
- 3) Вортекс (не обязательно)

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

В состав контроля RIDA® QUICK Adenovirus Control входят только инактивированные антигены. Несмотря на это, к контролю необходимо относиться как к потенциально инфицированному материалу и обращаться с ним в соответствии с действующей официальной инструкцией.

7. РЕАГЕНТЫ И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Контроль RIDA® QUICK Adenovirus Control необходимо хранить при температуре 2-8°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество контрольного материала не может быть гарантировано.

8. ПОКАЗАТЕЛИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ИЛИ ПОРЧИ РЕАГЕНТА

Появление неспецифической окраски или дополнительных полос в тестовой зоне тест-полоски или тест-кассеты может свидетельствовать о нестабильности или порче контрольного материала.

9. ПОДГОТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ

Предварительная подготовка контрольного материала не требуется.

10. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ**10.1 С использованием тест-кассет (N1003)**

В круглое окошко тест-кассеты внесите 4 капли (200 мкл) контрольного материала. .

10.2 С использованием тест-полосок (N1002)

Внесите в чистую тестовую пробирку 6 капель контрольного материала и погрузите в нее тест-полоску. Убедитесь, что уровень жидкости находится ниже стоп-линии, отмеченной стрелкой.

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты контрольной постановки с RIDA® QUICK Adenovirus Control должны быть оценены в течение пяти минут после проведения теста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«21» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Контрольный материал на протозойные инфекции
(RIDA® QUICK Parasite Combi Control)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)

RIDA® QUICK Parasite Combi Control**1 флакон × 1,8 мл (на 9 контрольных реакций)****1. НАЗНАЧЕНИЕ**Только для *in vitro* диагностики.

Положительный контроль RIDA® QUICK Parasite Combi Control предназначен для использования в качестве контрольного материала, позволяющего проверять работоспособность экспресс-тестов RIDA® QUICK rapid test (N1102/N1103; N1202/N1203; N1702/N1703; N1122/N1123; N1722/N1723). При его использовании в тест-кассетах образуются окрашенные тестовые полосы, соответствующие определяемым антигенам паразитических простейших.

2. ВВЕДЕНИЕ

RIDA® QUICK Parasite Combi Control — контрольный материал, поставляемый в дополнение к экспресс-тестам линии RIDA® QUICK. В его состав входят инаktivированные антигены паразитических простейших *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* и *Entamoeba histolytica/dispar*. Перед использованием положительный контроль, как и все компоненты набора (буфер для экстракции, тест-кассеты или тест-полоски) должны быть прогреты до комнатной температуры (20-25°C). Тест-кассеты/тест-полоски необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Положительный контроль RIDA® QUICK Parasite Combi Control специфически реагирует с компонентами тестового устройства, что приводит к появлению окрашенных тестовых полос, как описано в инструкции по применению соответствующих экспресс-тестов.

4. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

1 флакон (1,8 мл), содержащий Положительный контроль RIDA® QUICK Parasite Combi Control. Этого количества достаточно для проведения до 9 контрольных анализов.

5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- 1) Экспресс-тест линии RIDA® QUICK для выявления паразитарных простейших
- 2) Пробирки
- 3) Вортекс (не обязательно)

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

В состав положительного контроля RIDA® QUICK Parasite Combi Control входят только инаktivированные антигены. Несмотря на это, к контролю необходимо относиться как к потенциально инфицированному материалу и обращаться в соответствии с установленными правилами.

7. РЕАГЕНТЫ И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Контроль RIDA® QUICK Parasite Combi Control необходимо хранить при температуре 2-8°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество контрольного материала не может быть гарантировано.

8. ПОКАЗАТЕЛИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ИЛИ ПОРЧИ РЕАГЕНТА

Появление неспецифической окраски или дополнительных полос в тестовой зоне тест-полоски или тест-кассеты может свидетельствовать о нестабильности или порче контрольного материала.

9. ПОДГОТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ

Перед применением положительный контроль RiDA® QUICK Parasite Combi Control смешивают с с буфером для экстракции из соответствующего набора в равных объемах. Для этого в чистую пробирку вносят 4 капли (200 мкл) контроля и 4 капли (200 мкл) буфера для экстракции и тщательно перемешивают.

10. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

10.1 С использованием тест-кассет

В круглое окошко тест-кассеты внесите 4 капли (200 мкл) подготовленного (как описано в п. 9) раствора положительного контроля и инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре (20-25°C). По окончании времени инкубации проведите учет результатов.

10.2 С использованием тест-полосок

Погрузите тест-полоску в пробирку с подготовленным (как описано в п.9) положительным контролем. Убедитесь, что уровень жидкости находится ниже стоп-линии, отмеченной стрелкой. После 10-минутной инкубации считайте результат теста.

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Кроме контрольной полосы, должны появиться специфические тестовые полосы соответствующих цветов, характерные для данного вида тест-системы (см. инструкцию по применению соответствующего набора).

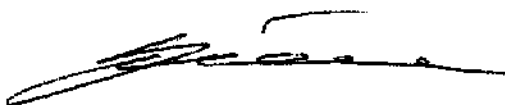
Если контрольная полоса отсутствует, тест считается проведенным неправильно, а его результаты недостоверными. Причиной может быть неправильное выполнение процедуры анализа, использование контроля или наборов с истекшим сроком годности, непригодность тестовых устройств или реагентов для анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

М.И. Прищепа

«27» сентября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Контрольный материал на веротоксин и энтерогеморрагические эшерихии коли
(RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control)
производства фирмы R-Biopharm AG (Германия)**

RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control**1 флакон × 1,8 мл (на 9 контрольных реакций)****1. НАЗНАЧЕНИЕ**Только для *in vitro* диагностики.

Положительный контроль RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control предназначен для использования в качестве контрольного материала, позволяющего проверять качество работы экспресс-тестов линии RIDA® QUICK (N2202/N2203) для определения веротоксина и E. coli O157.

2. ВВЕДЕНИЕ

RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control - контрольный материал, поставляемый в дополнение к экспресс-тестам линии RIDA® QUICK. Перед использованием положительный контроль, как и все компоненты набора (буфер для экстракции, тест-кассеты или тест-полоски) должны быть прогреты до комнатной температуры (20-25°C). Тест-кассеты/тест-полоски необходимо извлечь из упаковки только непосредственно перед использованием. Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время анализа.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Положительный контроль RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control специфически реагирует с компонентами тестового устройства, что приводит к развитию окрашивания тестовых полос, как описано в инструкции к набору.

4. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

1 флакон (1,8 мл), содержащий Положительный контроль RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control. Этого количества достаточно для проведения до 9 контрольных анализов.

5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- 1) Экспресс-тест линии RIDA® QUICK для выявления паразитарных простейших
- 2) Пробирки
- 3) Вортекс (не обязательно)

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

В состав положительного контроля RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control входят только инактивированные антигены. Несмотря на это к контролю необходимо относиться как к потенциально инфицированному материалу и обращаться в соответствии с установленными правилами.

7. РЕАГЕНТЫ И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Контроль RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control необходимо хранить при температуре 2-8°C и использовать до срока, указанного на упаковке. После истечения срока годности качество контрольного материала не может быть гарантировано.

8. ПОКАЗАТЕЛИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ИЛИ ПОРЧИ РЕАГЕНТА

Появление неспецифической окраски или дополнительных полос в тестовой зоне тест-полоски или тест-кассеты может свидетельствовать о нестабильности или порче контрольного материала.

9. ПОДГОТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ

Перед применением положительный контроль RIDA® QUICK Verotoxin/O157 Combi Control смешивают с буфером для экстракции из соответствующего набора в равных объемах. Для этого в чистую пробирку вносят 4 капли (200 мкл) контроля и 4 капли (200 мкл) буфера для экстракции и тщательно перемешивают.

10. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ**10.1 С использованием тест-кассет**

В круглое окошко тест-кассеты внесите 4 капли (200 мкл) подготовленного (как описано в п. 9) раствора положительного контроля и инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре (20-25°C). По окончании времени проведите учет результатов.

10.2 С использованием тест-полосок

Погрузите тест-полоску в пробирку с подготовленным (как описано в п. 9) положительным контролем. Убедитесь, что уровень жидкости находится ниже стоп-линии, отмеченной стрелкой. После 10-минутной инкубации считайте результат теста.

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Кроме синей контрольной полосы, должны появиться две тестовые полосы: полоса определения веротоксина (красная) и антигенов *E. coli* O157 (зеленая).

В случае отсутствия какой-либо из трех полос, тест считается проведенным неправильно, а его результаты недостоверными. Причиной может быть неправильное выполнение процедуры анализа, использование контроля или наборов с истекшим сроком годности, непригодность тестовых устройств или реагентов для анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в полной версии оригинала инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк