

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного унитарного  
предприятия «Государственный научно-исследовательский  
институт биологического приборостроения» ФМБА России

ФГУП «ГосНИИБП»

Е. Н. Храмов

2014 г.

М.П.



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Тест-системы для выявления противотуберкулезных антител на основе  
ГЦФЖ в сыворотке (плазме) крови  
«ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль»

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Тест-система «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль» (далее по тексту Тест) предназначена для выявления специфических антител к возбудителю туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis*) в сыворотке (плазме) крови человека методом иммунохроматографического экспресс-анализа на основе ГЦФЖ с визуальной интерпретацией результатов.

1.2. Туберкулез (от латинского *tuberculum* – бугорок) – широко распространенное в мире инфекционное заболевание человека и животных, вызываемое различными видами кислотоустойчивых микобактерий, как правило, *Micobacterium tuberculosis* (палочка Коха). Туберкулез обычно поражает органы дыхания (легкие и бронхи), реже затрагивая другие органы и системы. Ввиду этого различают два основных вида туберкулеза: туберкулез легких и внелегочный туберкулез. В пораженных туберкулезом органах (легкие, почки, лимфатические узлы, кожа, кости, кишечник, головной мозг, мозговые оболочки и др.) развивается специфическое «холодное» туберкулезное воспаление, носящее преимущественно гранулематозный характер. *Micobacterium tuberculosis* передается воздушно-капельным путем при разговоре, кашле и чихании больного. Другие пути проникновения – алиментарный, контактный и трансплацентарный – встречаются значительно реже. Туберкулез распространен повсеместно. По данным ВОЗ в 2008 г в мире заболело туберкулезом около 9,3 млн. человек, и зарегистрировано 1,8 млн. случаев смерти от этой болезни. Наибольшее количество больных туберкулезом регистрируется в странах Азии и Африки.

Клиническая диагностика туберкулеза основана на комплексе методов: флюорография, рентгенография и томография пораженных органов и систем, микроскопия мокроты, бактериологическое исследование, кожная туберкулиновая проба (реакция Манту), полимеразная цепная реакция, иммуноферментный анализ, иммунохроматографический анализ (ИХА). До XX века туберкулез был практически неизлечим. В настоящее время разработана комплексная программа, позволяющая выявлять и вылечить заболевание на ранних стадиях его развития.

### 1.3. Диагностическая значимость определения.

Экспресс-выявление в сыворотке (плазме) крови человека специфических антител к *Micobacterium tuberculosis* в клинической практике используется обычно для следующих целей:

- скрининговые обследования на туберкулез;
- диагностика легочного туберкулеза;
- диагностика туберкулеза внелегочной локализации;
- контроля эффективности противотуберкулезного лечения;
- раннего выявления случаев рецидивов.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТА

**2.1. Принцип работы Теста.** Экспресс-выявление антител к возбудителю туберкулеза основано на принципе ИХА. Исследуемый образец сыворотки (плазмы) крови смешивается с ИХА-Раствором и наносится на участок планшета индикаторного (на уровне маркировки «S»). При наличии в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови специфических противотуберкулезных антител они реагируют с кроличьими поликлональными антителами к иммуноглобулинам человека (IgA, IgM, IgG), конъюгированными с наночастицами гексацианферрата железа, образуя окрашенный комплекс. Этот комплекс равномерным фронтом движется по мембране, благодаря капиллярным силам, и реагирует с иммобилизованным на мембране в тестовой зоне планшета индикаторного (на уровне маркировки «Т») высокоочищенным рекомбинантным антигеном *Mycobacterium tuberculosis* {H37 Rv}, образуя окрашенную линию сине-голубого цвета. В отсутствии в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови специфических противотуберкулезных антител окрашенная линия сине-голубого цвета на мембране в тестовой зоне планшета индикаторного на уровне маркировки «Т» не образуется.

Несвязавшийся в тестовой зоне избыток конъюгата кроличьих поликлональных антител к иммуноглобулинам человека (IgA, IgM, IgG) с наночастицами гексацианферрата железа перемещается вверх по мембране и образует окрашенную линию сине-голубого цвета в тестовой зоне планшета индикаторного (на уровне маркировки «С») вне зависимости от наличия в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови специфических противотуберкулезных антител.

Регистрация результатов анализа производится визуально.

### 2.2. Состав Теста:

- **планшеты индикаторные**, каждый из которых представляет собой пластиковое основание (подложка) прямоугольной формы с наклеенной на него нитроцеллюлозной мембраной и бассейнами из пористого материала с обеих сторон; в колпачке из белого пластика с двумя отверстиями: для нанесения исследуемого образца (маркировка «S») и визуальной детекции результатов определения - тестовая зона (с маркировками «Т» и «С») в индивидуальной упаковке из пластикового пакета (с основой из алюминиевой фольги) с осушителем; готовы к использованию - 20 шт.;
- **ИХА-Раствор**; готов к использованию - 1 пробирка (3,0 мл);
- **пробирки** пластиковые конические с крышкой одноразовые; готовы к использованию
- 20 шт.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** При проверке на стандартной панели предприятия (СПП № 001 v. 810 «Сыворотки крови человека, не содержащие специфические антитела к антигенам *Mycobacterium tuberculosis* для проверки специфичности», утвержденной директором ФГУП «ГосНИИБП» 08.08.2012 г.), специфичность составляет 100%.

**3.2. Чувствительность.** При проверке на стандартной панели предприятия (СПП № 0012 v. 810 «Сыворотки крови человека, содержащие специфические антитела к антигенам *Mycobacterium tuberculosis* для проверки чувствительности», утвержденной директором ФГУП «ГосНИИБП» 08.08.2012 г.), чувствительность составляет 100%.

**3.3. Время проведения анализа.** Общее время экспресс-выявления специфических антител к антигенам *Mycobacterium tuberculosis* в сыворотке (плазме) крови с использованием Теста «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль» не превышает 10 мин.

**3.4. Объем исследуемого образца.** Для экспресс-выявления специфических антител к антигенам *Mycobacterium tuberculosis* с использованием Теста «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль» требуется не более 5 мкл исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови

**3.5. Аналитическая чувствительность,** МЕ/мл, не более 700 МЕ/мл

**3.6. Сравнение Теста с аналогами.** При разработке и апробации Теста «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль» в качестве референсного изделия медицинского назначения использовался *Набор реагентов для иммунохроматографического выявления антител к Микобактерии туберкулезис в сыворотке (плазме) или цельной крови человека «ИХА-ТБ-ФАКТОР»* производства ООО «Фактор-Мед», Россия (зарегистрирован в РФ, РУ № ФС 012a2006/3133-06 от 04 апреля 2006 г.).

При проведении сравнения результатов на массиве образцов сывороток (плазм) крови здоровых доноров и пациентов с подтвержденными диагнозами показана высокая корреляция ( $k_t > 0,98$ ) между Тестом «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль» и Набором реагентов «ИХА-ТБ-ФАКТОР».

### 4. ПОКАЗАТЕЛИ ПРАВИЛЬНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

**4.1.** Показатели правильности определения для проведения контроля качества анализа приведены в **аналитическом паспорте** (паспорте контроля качества) для каждой серии Теста «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль», который является неотъемлемой частью комплекта поставки Теста.

**4.2.** В случае если в комплекте поставки Теста отсутствует **аналитический паспорт** (паспорт контроля качества), проведение анализа не допускается. Необходимо обратиться к поставщику (производителю) Теста.

**4.3.** Следует оценивать показатели правильности определения при каждом независимом анализе. Необходимо проводить расчет (оценку) каждого параметра контроля качества анализа при каждом независимом анализе.

**4.4.** При неудовлетворительном результате оценки правильности определения хотя бы по одному параметру результаты анализа исследуемых образцов сыворотки (плазмы) пациентов считаются недостоверными.

4.5. При неудовлетворительном результате оценки правильности определения хотя бы по одному параметру следует провести повторный анализ. При повторении неудовлетворительных результатов следует обратиться к поставщику (производителю) Теста «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль».

## **5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

5.1. Потенциальный риск применения Теста - класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Теста в используемых концентрациях являются нетоксичными.

5.3. При работе с Тестом следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

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

5.5. Меры предосторожности-соблюдение *«Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР»* (Москва, 1981 г).

5.6. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

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

## **6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ТЕСТОМ:**

- дозаторы со сменными одноразовыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости в диапазоне 0,1-10 мкл и 20-200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3,0 %);

- холодильник бытовой;

- часы или секундомер;

- перчатки резиновые (ГОСТ 3-88);

- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76).

## **7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА**

7.1. Для проведения анализа следует использовать свежеприготовленные образцы сыворотки (плазмы) крови. Допускается также использование образцов сыворотки (плазмы) крови, которые хранились после отбора не более двух недель при температуре от плюс 4<sup>0</sup>С до плюс 8<sup>0</sup>С. При необходимости более длительного хранения образцы сыворотки (плазмы) крови следует заморозить

при температуре минус 20<sup>0</sup> С. Не допускается повторное замораживание исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Не допускается использование для анализа гемолизированных образцов сыворотки (плазмы) крови.

**7.2.** Перед проведением анализа компоненты Теста и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови, которые хранились при температуре от плюс 4<sup>0</sup>С до плюс 8<sup>0</sup>С, следует выдержать при комнатной температуре от плюс 18<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С не менее 30 мин.

Замороженные исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует довести до комнатной температуры от плюс 18<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С.

Перед использованием следует тщательно перемешать исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови, избегая вспениваний.

**7.3.** Извлечь Тест из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при комнатной температуре от плюс 18<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С не менее 60 мин. Планшет индикаторный выдерживать в закрытой упаковке во избежание конденсации влаги на мембране.

#### **7.4. Приготовление планшета индикаторного**

Извлечь Тест из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при комнатной температуре от плюс 18<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С не менее 60 мин. Планшет индикаторный следует выдерживать указанное время в закрытой оригинальной упаковке предприятия-производителя во избежание конденсации влаги на мембране.

Рекомендуется перед анализом нанести карандашом или маркером на планшет индикаторный код исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови или ФИО пациента.

#### **7.5. Подготовка исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови для анализа**

В пробирку, входящую в состав Теста, внести 115 мкл ИХА-Раствора и 5 мкл исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека. Тщательно перемешать содержимое пробирки, избегая вспенивания. Приготовленный разведенный исследуемый образец сыворотки (плазмы) крови следует использовать в течение 2 ч. Хранению не подлежит.

**7.6.** ИХА-Раствор готов к использованию.

#### **7.7. Условия проведения анализа.**

Анализ проводят при следующих климатических условиях:

- температуре окружающего воздуха от плюс 18<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С;
- относительной влажности воздуха не более 80%.

### **8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

**8.1.** В отверстие планшета индикаторного (маркировка «S») с помощью дозатора по каплям внести 120 мкл разведенного исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови (см. п. 7.5.). Капли вносят с интервалом 2-5 с.

**8.2.** Планшет индикаторный инкубируют при комнатной температуре от плюс 18<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С в течение 10 мин после внесения первой капли.

В течение этого периода времени планшет индикаторный не следует передвигать, переворачивать и т.д.

## **9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

9.1. Результаты анализа определяют визуально через 10 мин после внесения первой капли разведенного исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови в планшет индикаторный.

Регистрация результатов анализа по истечении 20 мин запрещена и такие результаты являются недостоверными.

## **10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

10.1. Появление одной линии сине-голубого цвета в тестовой зоне планшета индикаторного на уровне маркировки «С».

Результат анализа отрицательный, т.е. в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови не выявлено антител к возбудителю туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis*).

10.2. Появление двух линий сине-голубого цвета в тестовой зоне планшета на уровне маркировки «С» и на уровне маркировки «Т».

Результат анализа положительный, т.е. в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови выявлены антитела к возбудителю туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis*).

### **10.3. Иные результаты**

Все прочие результаты считаются недостоверными. Анализ необходимо повторить. При повторном получении таких же результатов следует обратиться к поставщику Теста.

Положительный результат анализа не может служить основанием для постановки диагноза и должен использоваться в комплексе с клиническим наблюдением и другими методами диагностики туберкулеза.

## **11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ТЕСТА**

11.1. Тест «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от плюс 5<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С в течение всего срока годности (12 мес).

Транспортирование Тестов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных для данного вида транспорта, при температуре от плюс 5<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С.

11.2. Тест «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль» рассчитан на проведение анализа 20 неизвестных образцов при использовании всего комплекта планшетов индикаторных.

11.3. В случае дробного использования Теста компоненты следует хранить следующим образом:

- вскрытый планшет индикаторный хранению не подлежит;
- оставшиеся неиспользованными (невскрытыми) планшеты индикаторные допускается хранить в оригинальной упаковке предприятия-производителя при температуре от плюс 5<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С в течение всего срока годности Теста;
- ИХА-Раствор после вскрытия пробирки допускается хранить при температуре от плюс 5<sup>0</sup>С до плюс 25<sup>0</sup>С в течение всего срока годности Теста.

11.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по

применению Теста.

## 12. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пунга В.В., Капков Л.П. // Пробл. туб. 1999. № 1. С. 14.
2. Капков Л.П. // Пробл. туб. 1998. № 3. С. 21.
3. Фишер Ю.Я. и др. // Пробл. туб. 1998. № 1. С. 10.
4. Шульга И.А. и др. // Пробл. туб. 1998. № 6. С. 4.
5. Мишин В.Ю. // Рус. мед. журн. 1998. № 17. С. 1135.
6. Туберкулез: Руководство для врачей / Под ред. Хоменко А.Г. М., 1996.
7. Аяцков Д.Ф. и др. Выявление туберкулеза в современных условиях. Саратов, 2001.
8. Ивановский В.Б., Нейштадт А.С. // Пробл. туб. 1998. № 2. С. 51.

**По вопросам, касающимся качества Тест-системы «ТУБ-АТ-Иммунохром-Гидрозоль», следует обращаться в Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения» ФМБА России ФГУП «ГосНИИБП» по адресу: 125424, Москва, Волоколамское шоссе, д. 75, к. 1, тел/факс (495) 4917322.**

Начальник отдела

Федерального государственного унитарного предприятия

«Государственный научно-исследовательский институт

биологического приборостроения»

ФМБА России ФГУП «ГосНИИБП»

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 г.

М.П.

С. П. Ярков

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической

лабораторной диагностики

ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 г.

М.П.

12 MAR 2014



д.м.н., профессор В. В. Долгов

Пронумеровано,  
прошнуровано и  
скреплено печатью 7 л.

Директор ФГУП «ГосНИИ БП»  
Е.Н.Храмов

