

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «ДИНАРК»
С.Н.Петроченко
«30» _____ 2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ.

«НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЕННЫМ БИОРЕГУЛЯТОРАМ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ» («АДИМУСТАТ») по ТУ 21.20.23-033-74621930-2021.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Набор реагентов «АДИМУСТАТ» предназначен для *in vitro* качественного определения антител к эндогенным биорегуляторам (β -эндорфин, серотонин, дофамин, гистамин, орфанин, ангиотензин, ГАМК, глутамат, брадикинин, вазопрессин, тромбин, α -2-макроглобулин) в сыворотке крови человека иммуноферментным методом.

1.2. **Область применения набора** – клиническая лабораторная диагностика. Набор предназначен только для профессионального использования специалистами в области лабораторной диагностики: заведующими лабораториями, врачами КДЛ, врачами-лаборантами, медицинскими лабораторными техниками (фельдшер-лаборант), лаборантами, медицинскими технологами.

Набор реагентов «АДИМУСТАТ» используется, как средство для оценки состояния пациентов с наркологическими и, возникающими в следствии употребления ПАВ, психическими расстройствами и физиологическими изменениями; мониторинга и дифференцированной оценки эффективности процесса лечения (выздоровления) на основании изменения в динамике уровня антител к эндогенным биорегуляторам (ЭБ) в сыворотке крови человека.

1.3. Показания к применению

Анализ крови на наличие антител к эндогенным биорегуляторам назначается при диспансерных обследованиях для индивидуального мониторинга иммунологических показателей, которые являются природными маркерами состояний систем организма. Анализ е-АТ к определяемым данным набором антигенам имеет диагностическую значимость. Известно, что уровни е-АТ и концентрации самих

антигенов, к которым и относятся эндогенные биорегуляторы, являются взаимосвязанными величинами. Одномоментное изменение уровня антител к ЭБ, по отношению к контрольной группе сравнения, свидетельствует об участии этих систем в развитии заболеваний.

На основании полученных результатов возможно: установить глубину отклонения от нормы в системах регуляции гомеостаза, за которые отвечают эндогенные биорегуляторы, контролировать изменение уровня антител к ЭБ, проводить коррекцию состояния организма и оценивать эффективность лечения.

Комплексная иммунохимическая диагностика позволяет оценить ресурсы организма человека и сделать вывод относительно возможных рисков для здоровья и предупреждения развития различных патологий в результате приема ПАВ. По результатам клинического обследования решается вопрос о виде оказания медицинской помощи и объеме дополнительного обследования. Диагноз устанавливается на основании клинического обследования, физикального обследования, обследование психиатра-нарколога, данных эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований.

1.4. Противопоказаний для применения набора нет. Набор реагентов «АДИМУСТАТ» используют во всех группах населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.5. Набор рассчитан на проведение анализа для каждого антигена (β -эндорфин, серотонин, дофамин, гистамин, орфанин, ангиотензин, ГАМК, глутамат, брадикинин, вазопрессин, тромбин, α -2-макроглобулин), в дубликатах 2 неизвестных проб, положительных контрольных образцов и отрицательного контрольного образца.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

2.1. Метод определения основан на взаимодействии антител к эндогенным биорегуляторам (β -эндорфин, серотонин, дофамин, гистамин, орфанин, ангиотензин, ГАМК, глутамат, брадикинин, вазопрессин, тромбин, α -2-макроглобулин), содержащихся в анализируемой пробе, с иммобилизованным на внутренней поверхности планшета антигеном указанного эндогенного биорегулятора. Образовавшийся комплекс антиген-антитело выявляют с помощью конъюгата антител против иммуноглобулинов человека, меченных пероксидазой из корня хрена. Учет результатов проводят по изменению окраски субстратно-хромогенной смеси, причем интенсивность окраски пропорциональна концентрации антител, содержащихся в анализируемой пробе.

С использованием Медицинского изделия «Набор реагентов для качественного определения антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови иммуноферментным методом» («АДИМУСТАТ») по ТУ 21.20.23-033-74621930-2021 можно определить антитела к следующим веществам:

β -эндорфин относится к классу опиоидных пептидов и участвует в широком спектре функций, начиная от клеточного до поведенческого уровня. При взаимодействии с определенным рецептором оказывают множество эффектов на

организм человека. Участвует в контроле деятельности сердечной и респираторной системы, модулирует иммунный ответ, регулируют ЖКТ, репродуктивную и нейроэндокринную функцию. Являясь основным медиатором антиноцицептивной системы, β -эндорфин отвечает за разнообразные ощущения хорошего самочувствия, уменьшает тревогу, депрессию, беспокойство, модулирует центр движения, памяти, обучения.

В исследованиях, выполненных нами ранее было доказано, что у человека происходит **изменение уровня антител к β -эндорфину** в случае регулярных нарушений в работе указанных выше систем организма в течение длительного периода времени.

Серотонин - один из основных нейромедиаторов вырабатывается в специальных нейронах головного мозга и является химическим передатчиком импульсов между нервными клетками. Активация рецептора серотонина включает гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось стресса. Это приводит к высвобождению кортикостерона и катехоламинов, увеличивает секрецию бета-эндорфина.

С недостаточностью серотониновой системы связывают такие проявления как напряжение, беспокойство и нервозность. Существенное значение придается серотонину в центральной регуляции болевой чувствительности. Показано, что снижение его содержания приводит к ослаблению анальгетического эффекта, понижению болевых порогов, большей частоте развития болевых синдромов. Ограничение синтеза серотонина в головном мозге отражается в снижении функции нормальной терморегуляции, а также изменению восприятия усталости и напряжения.

В исследованиях выполненных нами ранее установлена взаимосвязь **изменения уровня антител к серотонину** с напряженностью в работе сердечно-сосудистой системы, с изменением психоэмоционального статуса, возникновением тревожности, апатии, депрессии, снижением болевой чувствительности и контроля терморегуляции.

Дофамин относится к семейству катехоламинов, которые функционируют как нейротрансмиттеры при высвобождении из нервных окончаний в соответствующем органе-мишени, либо в качестве гормонов при секреции из клеток надпочечников в системный кровоток. Дофамин вызывает возбуждающие и ингибирующие эффекты периферической нервной системы и в ЦНС. К ним относятся стимуляция дыхания и повышение психомоторной активности. Оказывает возбуждающее воздействие на гладкомышечные клетки сосудов, которые снабжают кровью кожу и слизистые оболочки. Изменяется при травмах, кровопотерях. Сердечная функция подвержена возбуждающим эффектам, приводящим к увеличению частоты сердечных сокращений. Ингибирующее действие, напротив, проявляется в отношении клеток гладких мышц стенки кишки, бронхиального дерева легких и сосудов, которые снабжают кровью скелетные мышцы. Его действия снижают моторику желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, ингибируя синтез инсулина, а в почках увеличивает экскрецию натрия и выработку мочи. Дофамин тесно связан с психо-

эмоциональной адаптацией организма, с чувством удовольствия и двигательным поведением, играет роль в восприятии стрессовых ситуаций.

Ранее в наших исследованиях доказано, что резкое изменение уровня антител к дофамину происходит при шоковом состоянии, травмах, ожогах, кровопотере, стрессовых состояниях, при различных болевых синдромах, тревоге, страхе, при длительном нахождении пациента в состоянии излишней напряженности. Изменения уровня антител обнаружены при эпизодическом употреблении некоторых ПАВ.

Гистамин является сигнальной молекулой, способной активировать клетки через специфические рецепторы. Гистамин играет ключевую роль в фагоцитозе, росте клеток, участвует в доставке и поглощении глюкозы. Обычно гистамин связывают с аллергической реакцией. Однако есть много фактов, свидетельствующих о других функциях гистамина. Нарушения в гистаминэргической системе связаны с различными патологиями, включая расстройство сна, пищеварения, метаболический синдром, болевой процессинг, зуд, нейровоспаления, повреждения в головном мозге, в том числе головную боль. Высвобождение гистамина является чувствительным индикатором стресса. Гистамин может играть множественную роль в обеспечении воспалительных реакций во время восстановления после физической нагрузки, действуя на микрососудистые эндотелиальные клетки, приводя к повышенной проницаемости капилляров. У человека гистамин является молекулярным преобразователем реакций физической активности.

Ранее в наших работах было доказано, что изменение уровня антител в сыворотке крови к гистамину происходит в случае аллергической реакции, (анафилактический шок, ожоги, обморожения, сенная лихорадка, крапивница), при физической нагрузке, включая тренировку скелетных мышц, при расстройстве сна и пищеварения, а также при снижении энергоресурсов, иммунитета.

Орфанин относится к классу опиоидных пептидов, стимулирует активность нейронов, обеспечивает анальгезию в спинном мозге, регулирует высвобождение гормонов гипофиза в покое и при стрессе. Он модулирует ноцицепцию, двигательную функцию, пространственное обучение, дыхательную и иммунную систему. В головном мозге этот пептид модулирует болевые ощущения, реакции стресса и беспокойства, локомоторную функцию, связанную с опорно-двигательным аппаратом. В сердечно-сосудистой системе вызывает брадикардию и гипотензию, оказывает анти-аритмическое действие. Активация выброса орфанина при стрессе создает адаптивную обратную связь, предназначенную для возвращения мозга к нормальному функционированию.

В исследования, выполненных нами ранее, установлена прямая взаимосвязь изменения уровня антител к орфанину с длительным нарушением работы перечисленных выше систем организма, приводящую к снижению порога болевых ощущений, сопровождающееся травмами, воспалительными процессами, уменьшением стрессовой устойчивости, снижением эмоционального фона, включая резкую отмену приема ПАВ (наркотическую ломку).

Ангиотензин относится к пептидным гормонам. Его действие в организме прямо или косвенно ведет к повышению кровяного давления и уменьшению выведения натрия и воды. Ангиотензин вызывает воспалительные процессы в стенках кровеносных сосудов, способствует образованию активных форм кислорода и в результате нарушает структуру и функции эндотелия клеток, выстилающих стенки сосудов. Нарушение функции эндотелия приводит к развитию атеросклероза и ремоделированию стенок сосудов.

В исследованиях выполненных нами ранее установлена корреляция изменения уровня антител к Ангиотензину с истощением регуляторов или их недостаточностью в работе сердечно-сосудистой системы, приводящее к риску развития гипертонии, сердечно-сосудистых и почечных заболеваний.

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является доминирующим тормозным медиатором центральной нервной системы. Известно, что ГАМК снимает беспокойство, уменьшает психологический стресс, улучшает сон, помогает вызвать расслабление за счет увеличения общей и парасимпатической нервной деятельности. ГАМК также поддерживает физиологическое регулирование функции гипофиза и контролирует секрецию гормона роста из гипофиза. Игрет важную роль в росте и поддержании скелетных мышц человека, оказывает сильное стимулирующее воздействие на транспорт аминокислот. Дисфункция в ГАМКэргической системе приводит к эмоциональным и психическим патологиям.

В ранее выполненных нами исследованиях обнаружена взаимосвязь изменения уровня антител к ГАМК с развитием психоэмоциональных расстройств, включая подавленное состояние, депрессию, нарушение сна и др. Установлена корреляция между повышением содержания антител и развитием физической работоспособности, тренированности и ускорением процесса восстановления, а также при эпизодическом употреблении некоторых ПАВ.

Глутамат является основным возбуждающим нейромедиатором в мозге. При значительных физических нагрузках в организме человека происходит мобилизация энергетических ресурсов и перераспределение их к органам и тканям, подвергающихся нагрузке. Обеспечение мышц энергией происходит в результате аэробного и анаэробного биохимических процессов. Активация глутаматэргической системы при длительных физических нагрузках увеличивает синтез гликогена в мышцах, снижает уровень аммиака, который влияет на уровень усталости, тем самым, уменьшая ее. Это свидетельствует о высоком потенциале глутаминэргической системы в качестве анти-усталостного фактора. Глутамин незаменим для оптимального функционирования иммунной системы, его снижение ухудшает иммунную функцию и увеличивает риск инфекционного заболевания. Глутамин значительно снижен при инфекциях, операциях, травмах, ацидозе и ожогах.

В исследованиях, выполненных нами ранее, установлена взаимосвязь изменения уровня антител к глутамату с высокими физическими нагрузками на организм, эффективностью работы иммунной системы при вирусных инфекциях. Изменения уровня антител так же возможны при эпизодическом употреблении некоторых ПАВ.

Брадикинин - пептидный гормон из кининовой группы белков. Основная функция брадикинина заключается в расширении кровеносных сосудов и снижении артериального давления, что имеет значение при кардиопатологиях. Ингибиторы АПФ, используемые для снижения артериального давления, повышают его уровень. Брадикинин воздействует на кровеносные сосуды, высвобождая простациклин, оксид азота(II). Его избыток является основной причиной дилатации и повышения проницаемости сосудов при патологии органов и систем, в частности при артериальной гипертензии, ангионевротическом отеке, гуморальных реакций аллергий. Считается, что брадикинин является основным фактором, обеспечивающим болевую чувствительность, являясь медиатором воспаления и ноцицепции.

Ранее в наших исследованиях доказано, что **изменение уровня антител в сыворотке крови к брадикинину** происходит, если у человека регулярно в течение длительного периода времени наблюдаются сбои в системах организма, контролирующих работу кровеносных сосудов, при склонности к гипертензии (повышенному артериальному давлению).

Вазопрессин - пептидный гормон гипоталамуса. Его основными функциями является сохранение жидкости в организме и сужение кровеносных сосудов. Установлено, что вазопрессина оказывает влияние на поведение человека в социуме, на его адаптацию. Имеются данные исследований, указывающие на ключевую роль нейропептидов вазопрессина и окситоцина в регуляции сложного социального познания и поведения. Известно, что вазопрессин способствует дифференцировке мышц, гипертрофии и регенерации путем комбинированной активации ряда биохимических путей. Система метаболизма вазопрессина нарушена при некоторых нервно-мышечных заболеваниях.

В исследованиях, проведенных нами ранее, установлено, что вазопрессин оказывает разносторонние эффекты, влияющие на ресурс здоровья человека. Соответственно, **изменение уровня антител к вазопрессину** наблюдается при различных состояниях организма, включая такие важные эффекты, как вазоконстрикция, модуляцию миогенеза, психо-эмоциональная адаптация и др.

Тромбин (фактор свёртывания II) - сериновая протеаза, важнейший компонент системы гемостаза человека, включающий свёртывание крови. Главная его функция - превращение фибриногена в фибрин. Нарушения в системе фибринолиза могут быть связаны с увеличением риска развития таких патологий, как инфаркт миокарда, тромбоз глубоких вен, легочная эмболия, инсульт и др., приводя в ряде случаев к необходимости экстренного удаления тромба, препятствующего кровотоку.

Лабораторная диагностика системы гемостаза является важнейшим фактором эффективности лечения многих заболеваний и контроля применение препаратов, влияющих на гемостаз. В исследованиях, проведенных нами ранее, установлена взаимосвязь **изменения уровня антител к тромбину** с течением гемостатических нарушений, при атеротромбозе и ДВС.

Альфа-2-макроглобулин - это гликопротеин, который в основном синтезируется гепатоцитами, в небольших количествах продуцируется макрофагами, фибробластами, клетками надпочечников. В организме он действует как блокатор протеаз, участвует в процессах гемокоагуляции, транспорта белков и ионов, влияет на течение воспалительных реакций, снижает иммунологическую реактивность организма. Повышенный уровень $\alpha 2M$ определяется при хронической почечной недостаточности и остром гломерулонефрите. Его синтез усиливается при разрастании соединительной ткани печени и рассматривается как косвенный маркер фиброза.

Ранее нами было показано, что уровень антител к $\alpha 2M$ в сыворотке может изменяться при острых и хронических заболеваниях, но изменения в целом умеренные, не ассоциированы с какой-либо конкретной болезнью и являются дополнительным фактором при анализе.

Ссылки на наши работы с результатами исследований по тематике выявления глубины отклонения от нормы в системах регуляции гомеостаза, за которые отвечают эндогенные биорегуляторы, указаны в приложении «Теоретическое обоснование работы по качественному определению антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови иммуноферментным методом».

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора реагентов «АДИМУСТАТ» входят следующие компоненты:

- планшет 96-луночный разборный стрипованный, с иммобилизованными конъюгированными антигенами β -эндорфина (стрип № 1), серотонина (стрип № 2), дофамина (стрип № 3), гистамина (стрип № 4), орфанина (стрип № 5), ангиотензина (стрип № 6), ГАМК (стрип № 7), глутамата (стрип № 8), брадикинина (стрип № 9), вазопрессина (стрип № 10), тромбина (стрип № 11), α -2-макроглобулина (стрип № 12) – 1 шт.;
- положительный контрольный образец № 1 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к β -эндорфину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);
- положительный контрольный образец № 2 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к серотонину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);
- положительный контрольный образец № 3 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к дофамину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);
- положительный контрольный образец № 4 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к гистамину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);
- положительный контрольный образец № 5 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к орфанину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);
- положительный контрольный образец № 6 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к ангиотензину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);
- положительный контрольный образец № 7 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к ГАМК), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);
- положительный контрольный образец № 8 (сыворотка крови человека, содержащая

антитела к глутамат), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);

– положительный контрольный образец № 9 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к брадикинину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);

– положительный контрольный образец № 10 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к вазопрессину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);

– положительный контрольный образец № 11 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к тромбину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);

– положительный контрольный образец № 12 (сыворотка крови человека, содержащая антитела к α -2-макроглобулину), концентрированный – 1 фл. (0,005 мл);

– отрицательный контрольный образец (сыворотка крови человека, содержащая антитела к ЭБ в пределах референтных значений) – 1 фл. (0,5 мл).

– конъюгат антител против иммуноглобулинов человека, конъюгированных с пероксидазой из корня хрена (фирма Sigma, США, кат. № А 6907), концентрированный – 1 фл. (0,25 мл);

– фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ-Т) [однозамещенный фосфат калия (ГОСТ 4198-75), 0,3 М; двузамещенный фосфат калия (ГОСТ 2493-75), 0,7 М; твин-20 (фирма Serva, Германия, кат. № 37470), 0,05%-, pH 7,0-0,5, концентрированный - 2 фл. (по 10 мл);

– субстратный буферный раствор [лимонная кислота (ГОСТ 908-2014), 0,17 М; натрий лимоннокислый (ГОСТ 22280-76), 0,35 М; водорода пероксид (ФС 2.2.005.15), 0,2%], pH 4,9-0,3, концентрированный – 1 фл. (1,5 мл);

– раствор субстрата 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) (ТУ 9398-372-05825001-00) – 1 фл. (3,5 мл);

– серная кислота (стоп-реагент) (ГОСТ 2184-2013), 10% – 1 фл. (10 мл).

Положительные и отрицательный контрольные образцы изготовлены в соответствии с Технологическим регламентом № 33 ООО «ДИНАРК».

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1 Специфичность. Использование специфически активных и очищенных конъюгированных антигенов (β -эндорфин, серотонин, дофамин, гистамин, орфанин, ангиотензин, ГАМК, глутамат, брадикинин, вазопрессин, тромбин, α -2-макроглобулин), ковалентно связанных с белком, позволяет выявить исключительно специфическое взаимодействие антител к указанным эндогенным биорегуляторам, присутствующих в анализируемой пробе сыворотки крови. В доклинических исследованиях было доказано, что контрольные сыворотки, с заведомо добавленным известным составом из нескольких эндогенных биорегуляторов с завышенным содержанием уровня антител, определялись, как положительные только на соответствующих определяемому эндогенному биорегулятору стрипе при проведении ИФА.

4.2 Чувствительность. Минимальное содержание антител к β -эндорфину, серотонину, дофамину, гистамину, орфанину, ангиотензину, ГАМК, глутамату,

брадикинину, вазопрессину, тромбину, α -2-макроглобулину) определяемое с помощью набора, указано в таблице.

Чувствительность определения антител к эндогенным биорегуляторам.

Таблица.

Чувствительность определения антител к β -эндорфину, мкг/мл, не более	3,0
Чувствительность определения антител к серотонину, мкг/мл, не более	4,0
Чувствительность определения антител к дофамину, мкг/мл, не более	3,5
Чувствительность определения антител к гистамину, мкг/мл, не более	5,0
Чувствительность определения антител к орфанину, мкг/мл, не более	4,0
Чувствительность определения антител к ангиотензину, мкг/мл, не более	6,0
Чувствительность определения антител к ГАМК, мкг/мл, не более	5,5
Чувствительность определения антител к глутамату, мкг/мл, не более	6,0
Чувствительность определения антител к брадикинину, мкг/мл, не более	4,5
Чувствительность определения антител к вазопрессину, мкг/мл, не более	4,0
Чувствительность определения антител к тромбину, мкг/мл, не более	1,0
Чувствительность определения антител к α -2-макроглобулину, мкг/мл, не более	2,5

4.3. Диагностические характеристики. Для подтверждения диагностических характеристик было исследовано 640 образцов сыворотки крови. Предоставленные образцы сыворотки крови пациентов с заведомо добавленным известным составом из нескольких эндогенных биорегуляторов с завышенным содержанием антител в 95 % случаев определялись, как положительные. У здоровых доноров в 97% случаев в сыворотке крови отклонения от нормы в составе антител к определяемым эндогенным биорегуляторам не обнаруживались, т.е. результаты исследования определялись, как отрицательные. У пациентов, с различными патологиями, проходящих стационарное лечение, в 95% случаев получали результаты, как положительные, сопоставимые с поставленным диагнозом.

По данным исследования диагностическая чувствительность 96,97% (94,5-99,3%) с доверительной вероятностью 95%; диагностическая специфичность 99% (97,7% - 100%) с доверительной вероятностью 95%.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г).

5.2. Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента (раствор серной кислоты), в используемых концентрациях не токсичны.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать

разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые покровы. При попадании на кожу и слизистые покровы следует смыть ее большим количеством проточной воды.

5.3. При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 2.1.3684-21 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;

- убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 2.1.3684-21 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;

- удалять неиспользованные реактивы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 РФ 01 марта 2021 г. «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

5.4. При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки медицинские диагностические (ГОСТ 52239-2004), так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать возбудителей вирусных инфекций.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;

- вошер для планшетов (типа THERMO Scientific WELLWASH) с программой промывки;

- термостат суховоздушный, позволяющий поддерживать температуру ($+37 \pm 0,1$ °C);

- холодильник с морозильной камерой (от -7 °C до +8 °C);

- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 2-20 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл;

- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объем жидкости 50-200 мкл;

- цилиндры мерные вместимостью 50 и 100 мл;

- колба мерная вместимостью 200 мл;

- флаконы стеклянные вместимостью 5,0 мл;

- флаконы из темного стекла вместимостью 10 мл;

- ванночки для реагентов или стеклянные чашки Петри;

- бумага фильтровальная;

- вода дистиллированная;

- перчатки резиновые или пластиковые.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА

7.1. **Материалом для исследования** набором реагентов «АДИМУСТАТ» являются образцы сыворотки крови человека.

7.2. Забор крови производят в специальные пробоотборники без консервантов. Образец крови должен быть взят и находиться в пробирке, предназначенной для получения не менее 1 мл сыворотки крови на одного обследуемого (либо эквивалентный объём крови) и хранения сыворотки крови в отсутствии консерванта. Кровь может храниться в закрытых пробирках при температуре не выше (+5 °C) и не ниже (0 °C) не более 48 часов. В случае увеличения времени между взятием образца и его исследованием на срок более 48 часов, из образца требуется отделить и заморозить сыворотку. Замороженную сыворотку хранить при температуре не выше (-18 °C). Замороженный образец может храниться в таком состоянии до полугода (для проведения спорных повторных или сравнительных анализов). Разморозка и повторная заморозка не допускаются. Растворение компонентов должно проводиться при комнатной температуре (+18...+25 °C) и периодическом перемешивании.

Транспортировку биологических образцов допускается производить в специальных холодильных контейнерах или сумках-холодильниках с хладоэлементами при температуре (+2...+ 8 °C).

7.3.1. **Интерферирующие вещества, или ограничения**, связанные с пробой и пробоподготовкой, влияющие на результат исследования:

– не соблюдение правил забора и хранения биоматериала;

В сыворотке должны отсутствовать видимые механические загрязнения (частицы крови или иные загрязнения). Контаминированные или загрязненные образцы не использовать.

7.3.2. Присутствие в исследуемой образце завышенных показателей интерферирующих веществ (билирубин, глюкоза, гемоглобин), превышающих верхнюю границу нормы в 2 и 5 раз, не оказывает какого-либо влияния на результаты исследования тест системой «АДИМУСТАТ».

7.3.3. Присутствие в исследуемом образце завышенных показателей аутоантител в 5 раз превышающих верхний порог референтных значений не оказало какого-либо влияния на результаты анализа тест системой «АДИМУСТАТ». Превышение аутоантител в исследуемой пробе в 10 раз от верхнего порога референтных значений влияет на степень окрашивания и может определяться как ложноположительный результат (Протокол № 33 от 17.11.2019).

7.4. Положительные контрольные образцы и отрицательный контрольный образец, входящие в состав набора, подготовленные для применения, хранению не подлежат.

7.5. Раствор конъюгата антител к иммуноглобулинам человека можно хранить в замороженном состоянии при температуре (-7 °C) и ниже не более 5 суток. Допускается только однократное замораживание и размораживание.

7.6. Субстратно-хромогенная смесь хранению не подлежит.

7.7. Разведенный фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ-Т) можно хранить при температуре (+ 2...+8 °С) не более 5 дней.

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Растворение компонентов должно проводиться при комнатной температуре (+18...+25 °С) и периодическом перемешивании.

8.1. Извлечь набор из холодильника, открыть крышку коробки и выдержать компоненты набора при комнатной температуре в течение времени не менее 30 минут.

8.2. Приготовление буферного раствора.

Содержимое одного флакона с концентратом фосфатно-солевого буфера (ФСБ-Т) перенести в мерную колбу вместимостью 300 мл, дважды ополоснуть флакон дистиллированной водой, все промывные воды объединить с разведенным ФСБ-Т и довести общий объем до метки дистиллированной водой.

Полученный буферный раствор (ФСБ-Т) можно хранить при температуре (+2...+8 °С) не более 5 дней.

8.3. Приготовление растворов положительных контрольных образцов.

Внести во флакон 0,225 мл разведенного ФСБ-Т, добавить 0,025 мл соответствующего концентрированного положительного контрольного образца антител соответствующего эндогенного биорегулятора и тщательно перемешать до полного растворения.

Растворы положительных контрольных образцов хранению не подлежат!

8.4. Приготовление раствора отрицательного контрольного образца. Внести во флакон 2,7 мл разведенного ФСБ-Т, добавить 0,3 мл концентрированного отрицательного контрольного образца, содержащего антитела к ЭБ в пределах референтных значений и тщательно перемешать до полного растворения.

Растворы отрицательных контрольных образцов хранению не подлежат!

8.5. Приготовление раствора конъюгата антител против иммуноглобулинов человека (расчет приведен для проведения анализа на одном планшете. Внести во флакон 12,0 мл разведенного ФСБ-Т, добавить 0,150 мл концентрированного конъюгата антител к иммуноглобулинам человека и тщательно перемешать до полного растворения.

Раствор конъюгата антител к иммуноглобулинам человека можно хранить в замороженном состоянии при температуре (-7 °С) и ниже не более 5 суток. Допускается только однократное замораживание и размораживание.

8.6. Приготовление субстратно-хромогенной смеси.

Субстратно-хромогенную смесь готовить непосредственно перед применением!

Во флакон из темного стекла внести 1,0 мл концентрированного субстратного буферного раствора, добавить 9,0 мл дистиллированной воды, перемешать, добавить 2,5 мл раствора субстрата ТМБ и тщательно перемешать, избегая прямого попадания света.

Субстратно-хромогенная смесь, подготовленная к работе, хранению не

подлежит!

8.7. Стоп-реагент готов к использованию. Хранить при температуре (+2...+8°C) в течение всего срока годности набора.

8.8. Подготовка планшета

Во все лунки планшета внести по 0,25 мл разведенного ФСБ-Т, перемешать потряхиванием в течение 5 секунд и удалить раствор декантированием. Промывание повторить еще два раза. После последнего промывания удалить остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

8.9. Приготовление анализируемых образцов сыворотки крови для проведения анализа на всех антигенах.

Анализируемые образцы сыворотки крови развести в 100 раз разведенным ФСБ-Т: к 2,7 мл ФСБ-Т добавить 0,3 мл анализируемой сыворотки крови и тщательно перемешать.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Проведение анализа с использованием медицинского изделия «Набор реагентов для качественного определения антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови иммуноферментным методом» («АДИМУСТАТ») по ТУ 21.20.23-033-74621930-2021.

9.1. Внесение отрицательного контрольного образца.

В лунки A1 и B1; A2 и B2; A3 и B3.....A12 и B12 планшета внести по 0,1 мл отрицательного контрольного образца, содержащего антитела к ЭБ в пределах референтных значений (см п. 7.4).

9.2. Внесение положительного контрольного образца.

В лунки планшета C1 и D1 внести по 0,1 мл положительного контрольного образца №1 (см п. 7.3).

В лунки планшета C2 и D2 внести по 0,1 мл положительного контрольного образца №2 (см п. 7.3).

В лунки планшета C3 и D3 внести по 0,1 мл положительного контрольного образца №3 (см п. 7.3).

В лунки планшета C4 и D4 внести по 0,1 мл положительного контрольного образца №4 (см п. 7.3).

В лунки планшета C5 и D5 внести по 0,1 мл положительного контрольного образца №5 (см п. 7.3)и т.д. по аналогии, в лунки планшета C12 и D12 внести по 0,1 мл положительного контрольного образца №12 (см п. 7.3).

9.3. Внесение анализируемых образцов сывороток крови.

В лунки планшета E и F всех стрипов внести в дубликатах по 0,1 мл исследуемого образца № 1 сыворотки крови (см п. 7.9).

В лунки планшета G и H всех стрипов внести в дубликатах по 0,1 мл исследуемого образца № 2 сыворотки крови (см п. 7.9).

9.4. Закрывать планшеты крышкой и инкубировать в течение 1 часа при температуре (+37 °C).

9.5. Содержимое лунок планшета удалить декантированием. Затем провести его отмывку так, как это указано в п. 7.8.

9.6. Внести во все лунки планшета по 0,1 мл раствора конъюгата антител против иммуноглобулинов человека (см п. 7.5).

9.7. Закрыть планшет крышкой и инкубировать в течение 1 часа при температуре (+37 °C).

9.8. Содержимое лунок планшета удалить декантированием. Затем провести его отмывку так, как это указано в п. 7.8.

9.9. Добавить во все лунки планшета по 0,1 мл субстратно-хромогенной смеси, приготовленной по п. 7.6 за 15 минут до окончания второй инкубации. Выдержать планшеты при комнатной температуре (+18...+25 °C) в темном месте в течение 5-10 минут в зависимости от степени развития окраски.

9.10. Добавить во все лунки планшета с той же скоростью и в той же последовательности, как и субстратную смесь, по 0,05 мл раствора стоп-реагента.

9.11. Провести измерение величины оптической плотности (ОП) в лунках планшетов при длине волны 450 нм. Окраска содержимого планшета стабильна не более 1 часа при комнатной температуре в темном месте.

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследуемый образец расценивают, как сыворотку с **оптимальным содержанием антител к эндогенным биорегуляторам** в том случае, если среднее значение оптической плотности в лунках с анализируемым образцом, соответствует заданному условию, описанному формулой:

$$О_{Панализ} = О_{Потр} \pm 0,25,$$

$О_{Потр}$ – среднее значение оптической плотности в лунке с отрицательным контрольным образцом для конкретного антигена (на основании доклинических исследований группы доноров, среднее значение оптической плотности $О_{Потр}$ изменяется в диапазоне от 0,65 до 0,85).

Исследуемый образец расценивают как сыворотку с **отклонением от среднедонорского значения**, т.е. отличающуюся по содержанию антител к эндогенным биорегуляторам, если значение оптической плотности в лунках с анализируемым образцом ниже 0,35 или выше 1,30.

В данном случае рекомендуется провести дополнительные исследования для выявления причин значительного изменения уровня антител к эндогенным биорегуляторам, т.к. набор реагентов «АДИМУСТАТ» используется как вспомогательное средство для оценки изменения уровня антител к ЭБ и для проведения коррекции отклонения от нормы в системах регуляции гомеостаза организма.

В редких случаях (менее 2 %) искаженные результаты могут давать сыворотки крови людей с аутоиммунными и инфекционными расстройствами, если показатель ревматоидного фактора в крови пациента превышает норму более чем в 5 раз.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Набор реагентов «АДИМУСТАТ» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре (+2...+8 °C) в течение всего срока годности (6 мес.). Допускается хранение набора при температуре до (+25 °C) не более 5 суток.

11.2. Положительные и отрицательный контрольные образцы, субстратно-хромогенная смесь, подготовленные для применения, хранению не подлежат.

11.3. Раствор конъюгата антител к иммуноглобулинам человека можно хранить в замороженном состоянии при температуре (-7 °C) и ниже не более 5 суток. Допускается только однократное замораживание и размораживание.

11.4. Разведенный фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ-Т) можно хранить при температуре (+2...+8 °C) не более 5 дней.

11.5. Набор реагентов «АДИМУСТАТ» можно использовать, проводя анализ на определенных выборочно стрипах планшета, но каждый раз необходимо ставить соответствующие эндогенному биорегулятору положительный и отрицательный контрольные образцы.

11.6. Для отбора и добавления реагентов и анализируемых проб необходимо использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимость результатов пипетирования.

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

12. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

12.1. Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытых транспортных средств при температуре (+2...+8°C). Допускается транспортирование наборов при температуре до (+25 °C) не более 5 суток.

12.2. Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (+2...+8 °C) в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до (+25 °C) не более 5 суток.

13. УСЛОВИЯ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

13.1. Медицинские отходы классов Б и Г утилизируются в соответствии с постановлением СанПиН 2.1.3684-21 РФ 01 марта 2021 г.

13.2. Отходы класс Б—эпидемиологически опасные отходы (инфицированные и потенциально инфицированные отходы. Материалы и инструменты, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями).

Отходы класса Г—токсикологически опасные отходы 1-4 классов опасности лекарственные, диагностические, дезинфицирующие средства, не подлежащие использованию.

13.3. Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.3684-21 РФ), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

13.4. Утилизацию или уничтожение медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 РФ от 01 марта 2021 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», СП 2.1.3678-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

13.5. Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы сыворотки крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.3684-21 РФ). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

13.6. Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

14. РАСШИФРОВКА ИСПОЛЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Серийный номер
	Дата изготовления		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Использовать до ...
	Изготовитель		

По вопросам, касающимся качества набора «АДИМУСТАТ», следует обращаться в ООО «ДИАНАРК» по адресу: г. Москва, ул. Авиамоторная, д.51А, тел.: (495) 673-39-42.

15. ЛИТЕРАТУРА

1. Пат.2369872 Российская Федерация, МПК G0 1N 33/5330.01.2008 Способ определения предрасположенности к заболеваниям зависимости/ Мягкова М.А.; заявитель и патентообладатель Мягкова Марина Александровна заявл. 30.01.2008; опубл. 10.10.2009
2. Пат.2495433 Российская Федерация, МПК С 12 Q 1/28, G0 1N 33/53. Набор реагентов для иммуноферментного определения антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови для выявления заболеваний зависимости / Мягкова М.А.; заявитель и патентообладатель ООО «ДИАМЕДИКА» заявл. 15.11.2011; опубл. 10.10.2013
3. НИР по теме «Разработка нового подхода в диагностике скрытых форм наркомании на основе определения антител к наркотическим веществам и эндогенным биорегуляторам» в рамках гранта РГНФ № 05-06-06158а.
4. НИР «Разработка методов ранней диагностики игромании на основе сравнительного анализа естественных антител к эндогенным биорегуляторам» в рамках гранта РГНФ № 08-06-00885а.
5. Петроченко С.Н. Иммуноферментный анализ естественных антител к биогенным аминам и опиоидным пептидам в сыворотке крови человека: диссертация канд.биол.наук:-16 декабря 2009г / Петроченко Светлана Николаевна; научн. рук. Мягкова М.А.; Гематологический научный центр РАМН-Москва, 2009. - 112с.
6. Морозова В.С., Петроченко С.Н., Мягкова М.А. Естественные антитела в диагностике заболеваний зависимости // Тверь: ООО «Издательство «Триада».2016. С. 148.
7. Мягкова М.А., Морозова В.С., Петроченко С.Н. Роль естественных антитела в норме и при патологии // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. 2016. №1. С. 20-26.
8. Морозова В.С., Габрильянц О.А., Мягкова М.А. Диагностика и профилактика заболеваний зависимости: монография // М.: Издательский дом Академии Естествознания. 2015. С. 178.
9. Морозова В.С., Петроченко С.Н., Другова Е.Д., Полывяная О.Ю., Мягкова М.А. Определение нейроиммунных показателей для диагностики и прогнозирования развития заболеваний зависимости // XII Международная конференция и дискуссионный научный клуб "Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии",Крым, Ялта-Гурзуф, 02–12 июня 2014 г. Сборник материалов. С. 52-55.
10. Морозова В.С., Полывяная О.Ю., Петроченко С.Н., Шипицын В.В., Мягкова М.А., Мосейкин И.А. Определение естественных антител к эндогенным биорегуляторам у людей с острой и хронической болью методом иммуноферментного анализа и их связь с гендерными особенностями // Земский врач. 2013. №2. С. 39-43.
11. Мягкова М.А., Орлова Е.А., Петроченко С.Н. Исследование влияния физической нагрузки на уровень антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке

крови спортсменов // Физиология человека. 2019. Т.45. №3. С. 1-8. DOI 10.1134/S0131164619030135

12. Морозова В.С., Другова Е.Д., Мягкова М.А. Определение шести классов психоактивных веществ в различных объектах методом иммунохроматографии // Клиническая лабораторная диагностика. 2015. Т. 60. № 5. С. 27-31.

13. Другова Е.Д., Мягкова М.А. Иммуноферментный метод определения гистамина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 6-5. С. 891-894.

14. Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Боброва З.В., Орлова Е.А. Анализ естественных антител к эндогенным биорегуляторам для оценки адаптационных резервов организма человека // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. 2019. №2. С. 85-90. DOI 10.14427/jirai.2019.2.85

15. Мягкова М.А., Боброва З.В., Петроченко С.Н. Сравнительный анализ естественных антител к нейромедиаторам в условиях изменения физической нагрузки на организм человека // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21. №6. С.1139-1146.

16. Мягкова М.А., Морозова В.С. Иммунохимические свойства естественных антител к физиологически активным соединениям // Фундаментальные исследования. 2014. № 11(5). С.1066-1070.

17. Польшанная О.Ю., Морозова В.С., Левашова А.И., Мягкова М.А. Маркеры изменения гуморального иммунитета у пациентов с дорсалгией и их связь с возрастом // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. 2014. №4.

18. Морозова В.С., Другова Е.Д., Петроченко С.Н., Мягкова М.А. Иммунохимические свойства естественных антител к гистамину в норме и при патологии // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 3. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24611> (дата обращения: 28.10.2016).

19. Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Морозова В.С., Мосейкин И.А., Шипицын В.В., Польшанная О.Ю. Антитела к эндогенным биорегуляторам и их связь с возрастными и гендерными особенностями хронического болевого синдрома // Журнал неврологии и психиатрии им. Корсакова. 2013. №4. С.41-44.

20. Мягкова М.А., Кедик С.А., Суслов В.В., Морозова В.С., Петроченко С.Н., Шняк Е.А. Вакцина, снижающая патологию зависимости к наркотическим веществам группы опия // Тезисы докладов Юбилейных научных чтений, посвященных 120-летию со дня рождения проф. Н.А. Преображенского. Москва, 20 октября 2016 г. М.: 2016. С. 82-83.

21. Морозова В.С., Петроченко С.Н., Мягкова М.А. Диагностика игровой зависимости на основе сравнительного определения естественных антител к эндогенным биорегуляторам // IX Международная научно-практическая конференция «Современные тенденции развития науки и технологий». Белгород, 31 декабря 2015 г. Сборник научных трудов. С. 45-49.

22. Мягкова М.А., Морозова В.С. Естественных антител и их физиологические функции // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. 2014. № 3. С. 75.

23. Петроченко С. Н., Боброва З.В., Мягкова М. А. и др. Определение антител к эндогенным биорегуляторам для оценки функционального состояния здоровья спортсменов // Клиническая лабораторная диагностики. 2017. Т. 62. № 2. С. 346.

24. Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Левашова А.И. Оценка адаптационных возможностей организма на основе анализа естественных антител к эндогенным биорегуляторам // Biomedical Chemistry: Research and Methods. 2018. 1(3). e00038. DOI: 10.18097/BMCRM00038.

25. Спасский А.А., Мягкова М.А., Левашова А.И. и др. Методология комплексной оценки адаптационного потенциала спортсмена к нагрузке // Спортивная медицина: наука и практика. 2019. № 3. С. 49 - 61. DOI: 10.17238/ISSN2223-2524.2019.3.49.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К Варнавичус



30 НОЯ 2022



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 19 ЛИСТОВ

19 2022 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ
19 ЛИСТОВ

19 2022 год

Ген. Директор
ООО «ДИАНАРК»
Патроченко С.Н.