

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 20 г. № \_\_\_\_\_



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»

Роспотребнадзора

Кутырев В.В.

20 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

### ПО ПРИМЕНЕНИЮ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ЧУМНОМУ МИКРОБУ (ИФА-Ат-Ф1 *YERSINIA PESTIS*)

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Тест-система иммуноферментная для выявления антител к чумному микробу (ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*)», далее – тест-система «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*», предназначена для выявления антител к капсульному антигену фракции 1 (Ф1) чумного микроба в сыворотке крови людей, вакцинированных чумной вакциной, сыворотках, суспензиях крови и смывах с органов грудной полости потенциальных носителей чумы – представителей отряда Rodentia методом иммуноферментного анализа (ИФА).

#### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

**2.1 Принцип действия.** В тест-системе «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*» реализуется принцип непрямого варианта ИФА. При проведении анализа содержащиеся в исследуемом образце специфические анти-Ф1 антитела связываются с гомологичным антигеном, предварительно иммобилизованным на поверхности лунок полистиролового планшета для ИФА. Для выявления образовавшегося комплекса «антиген-антитело» применяется меченный пероксидазой стафилококковый белок А, обладающий способностью связываться с иммуноглобулинами класса IgG человека и ряда млекопитающих, включая представителей отряда Rodentia. Регистрацию реакции осуществляют после добавления субстратной смеси, содержащей перекись водорода и 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), diammonium salt (ABTS). При этом в присутствии пероксидазы происходит образование стабильного катион-радикала ABTS, придающего раствору зелено-голубую окраску с максимумом поглощения при длине волны 405 нм.

#### 2.2 Состав набора.

| Компонент                    | Описание                                                                                                                                                                                          | Количество |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1                            | 2                                                                                                                                                                                                 | 3          |
| ФСБ (фосфатно-солевой буфер) | порошок белого цвета, состоящий из калия фосфорнокислого однозамещенного $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , калия фосфорнокислого двухзамещенного $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , натрия хлорида $\text{NaCl}$ | 1 пробирка |

|                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                           |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Лактальбумин                                                                                | порошок кремового цвета, представляющий собой молоко сухое обезжиренное                                                                                                                                                   | 1 пробирка |
| Конъюгат Белок А*                                                                           | аморфная масса коричневатого цвета, представляющая собой белок А стафилококковый, конъюгированный с пероксидазой хрена, лиофилизированный                                                                                 | 1 пробирка |
| Глицерин                                                                                    | вязкая прозрачная жидкость                                                                                                                                                                                                | 1 пробирка |
| Tween-20                                                                                    | вязкая слегка желтоватая жидкость                                                                                                                                                                                         | 1 пробирка |
| Кислота лимонная                                                                            | порошок белого цвета                                                                                                                                                                                                      | 1 пробирка |
| Натрия цитрат                                                                               | порошок белого цвета                                                                                                                                                                                                      | 1 пробирка |
| ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), diammonium salt               | порошок бледно-зеленого цвета                                                                                                                                                                                             | 1 пробирка |
| Гидроперит                                                                                  | таблетка белого цвета                                                                                                                                                                                                     | 1 шт.      |
| Положительный контрольный образец (ПКО-Ат-Ф1)                                               | аморфная масса желтоватого цвета, представляющая собой иммуноглобулины мыши инбредной линии BALB/c, гипериммунизированной капсульным антигеном Ф1 чумного микроба, выделенные из асцитической жидкости, лиофилизированные | 1 пробирка |
| Планшеты полистироловые для иммуноферментного анализа однократного применения, обработанные | лунки планшета прозрачные, без видимых следов вещества                                                                                                                                                                    | 2 шт.      |

Тест-система «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*» рассчитана на проведение: 1) анализа в дубликатах 92 неизвестных образцов и 2 контрольных образцов, всего 192 определений (при исследовании проб, разведенных до диагностического титра, с целью обнаружения антител к Ф1 *Yersinia pestis* и постановкой положительного (1 лунка) и отрицательного (3 лунки) контролей на каждом планшете); 2) анализа 22 неизвестных образцов (с титрованием по короткому ряду – 8 разведений) и 2 контрольных образцов (для установления фактического значения титра специфических антител в образце).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**Специфическая активность.** Тест-система должна выявлять специфические антитела класса IgG к капсульному антигену Ф1 *Y. pestis* в сыворотке крови вакцинированных чумной вакциной людей в диагностическом титре 1/80 и более. Тест-система не должна давать положительных результатов с сывороткой крови невакцинированных людей в титре 1/80 и более.

Тест-система должна выявлять специфические антитела класса IgG к капсульному антигену Ф1 *Y. pestis* в биологических антителосодержащих жидкостях представителей отряда Rodentia в диагностическом титре 1/320 и более.



ПО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ РАБОТЕ  
А. К. НИКИФОРОВ

2

положительных результатов с биологическими жидкостями представителей отряда Rodentia, не содержащими соответствующие антитела, в разведении 1/320 и более.

#### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Использование тест-системы «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*» с истекшим сроком годности недопустимо. Уничтожение тест-систем, не прошедших контроль, а также серий с истекшим сроком годности проводят в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790–10.

4.2 Работу проводят в соответствии с СП 1.3.1285–03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», Москва, 2003 г.

#### 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ\*

| Наименование                                                                                                             | Обозначения документации, производитель                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                                                                                                                        | 2                                                                                                |
| Электронные или механические дозаторы переменного объема одноканальные (2–20, 20–200 мкл) и многоканальный (30–300 мкл), | «Biohit», Финляндия                                                                              |
| Штатив-подставка для дозаторов                                                                                           | «Хеликон», Россия                                                                                |
| Наконечники универсальные для дозаторов переменного объемом с аэрозольным барьером до 20 мкл                             | «Axygen», США                                                                                    |
| Наконечники универсальные для дозаторов переменного объемом с аэрозольным барьером до 200 мкл                            | «Axygen», США                                                                                    |
| Штатив «рабочее место» для микропробирок на 0,2 мл                                                                       | «Хеликон», Россия                                                                                |
| Термостат                                                                                                                | Термостат суховоздушный INCUCELL 111, «ВМТ», Чехия. Диапазон термостатирования от 22 °С до 70 °С |
| Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 18 °С                                                       | «Атлант», Россия                                                                                 |
| Емкость (для сброса отработанных расходных материалов)                                                                   | «Гем», Россия                                                                                    |
| Посуда мерная стеклянная                                                                                                 | ГОСТ 1770-74                                                                                     |
| Фотометр                                                                                                                 | Автоматический микропланшетный фотометр «Multiskan EX», Китай, со светофильтром 405 нм           |
| Промыватель планшет                                                                                                      | Промыватель планшет автоматический «Проплан», Россия                                             |
| Бумага фильтровальная                                                                                                    | Бумага фильтровальная лабораторная ГОСТ 12026-76, Россия                                         |
| Вода очищенная                                                                                                           | ФС 42-2619-97                                                                                    |



\*Допускается применение оборудования и материалов другого типа, по своим характеристикам не уступающих рекомендуемым.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Образцами для исследования служат сыворотки крови вакцинированных чумной вакциной людей, сыворотки, суспензии крови, смывы с органов грудной полости грызунов, взятые непосредственно перед исследованием или хранившиеся не более 6 ч в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  либо не более 14 суток в замороженном состоянии при температуре минус  $(18\pm 2)^\circ\text{C}$ , а также образцы антителосодержащего материала от животных высушенные на фильтровальной бумаге, пропитанной натрия мертиолатом.

Отлов живых зверьков, отбор проб биологического материала и их транспортировка в лабораторию для исследования проводят в соответствии с СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности», СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности», МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

Транспортировка проб биологического материала в лабораторию для исследований проводится при температуре от плюс 2 до плюс  $8^\circ\text{C}$  в течение 6 часов. После проведения предварительной обработки проб допускается их транспортировка при температуре от минус 16 до минус  $20^\circ\text{C}$  в течение 14 суток.

**6.1 Получение сыворотки крови.** Для получения сыворотки кровь выдерживают в термостате при температуре плюс  $37^\circ\text{C}$  в течение 30 минут. Затем центрифугируют при 1000 об/мин ( $g \approx 200$ ) в течение 10 мин или помещают в холодильник при температуре плюс  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  на 1–2 часа. Образовавшуюся сыворотку аккуратно отсасывают пипеткой, не допуская попадания эритроцитов.

**6.2 Получение суспензии крови животных.** Суспензии крови получают из краевой вены уха или хвостовой вены в количестве 18 мкл с помощью полуавтоматического дозатора со сменными наконечниками. Материал переносят в стеклянные или пластиковые пробирки с 2 мкл 3,8%-ного раствора цитрата натрия (соотношение 1/9). Аккуратно перемешивают покачиванием до полного смешивания с антикоагулянтом.

**6.3 Приготовление смыва с органов грудной полости.** Кожу отделяют от грудины животного, надрезают окологрудные кости, удаляют грудину и легкие. Затем рассекают сердце и крупные сосуды. В грудную полость мерно вливают забуференный физиологический раствор в соотношении 1/2 к получившемуся объему жидкости после рассечения органов грудной полости и перемешивают. Получившуюся жидкость переносят в пробирку и готовят разведение 1/10.

**6.4 Обеззараживание материала.** Материал от людей обеззараживанию не подлежит. Сыворотки и суспензии крови, смывы с органов грудной полости грызунов

Зам. Директор

по экспериментальной

и производственной

А. К. Никифоров

обеззараживают добавлением натрия мертиолатов до конечной концентрации 1/10000 с последующим прогреванием их при температуре  $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(30 \pm 1)$  мин.

**6.5 Приготовление высушенных образцов крови.** Для нанесения проб суспензии крови используют фильтровальную бумагу, разрезанную на квадраты  $2 \times 2$  см, пропитанную натрием мертиолатом в концентрации 1/1000 и высушенную. В центр квадрата наносят 0,2 мл исследуемой крови и высушивают на воздухе. Обеззараживание наступает после экспозиции в течение 60 мин при температуре  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ , после чего образцы могут быть использованы для анализа. Перед исследованием кусочек бумаги помещают в пробирку и заливают 2 мл 0,9%-ного раствора натрия хлористого, что соответствует разведению образца 1/10. После экспозиции в течение  $(35 \pm 5)$  мин при температуре  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  надосадочная жидкость готова для исследования.

При работе с мелкими грызунами для нанесения проб суспензии крови можно использовать пропитанную натрием мертиолатом и высушенную фильтровальную бумагу, разрезанную на квадраты  $1 \times 1$  см. В центр квадрата наносят 10 мкл пробы крови. После экспозиции в течение 60 мин при температуре  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  кусочек бумаги помещают в пробирку и заливают 100 мкл 0,9% раствора натрия хлорида, что также соответствует разведению образца 1/10. После экспозиции в течение  $(35 \pm 5)$  мин при температуре  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  надосадочная жидкость готова для исследования.

Высушенные образцы крови могут храниться при температуре  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  в течение 30 суток. В течение этого срока они пригодны для исследования с применением тест-системы «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*».

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

**7.1 Приготовление рабочих растворов.** Тест-систему извлекают из холодильной камеры.

ФСБ – сухую навеску растворяют в 500 мл воды очищенной (например, дистиллированной). Раствор хранят в холодильнике при температуре  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 7 суток.

Лактальбумин – сухую навеску смешивают с 0,5 мл приготовленного ФСБ и тщательно перемешивают стеклянной палочкой до получения однородной массы, которую переносят в мерный сосуд и доводят объем раствора до 30 мл фосфатно-солевым буфером. Перемешивают в течение 1–2 минут. Раствор хранят в холодильнике при температуре  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 2 суток. При необходимости более длительного хранения (до 2 нед) раствор лактальбумина помещают в морозильную камеру при температуре  $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Размораживают перед проведением анализа.

Конъюгат Белок А\* – сухое вещество растворяют добавлением 50 мкл воды очищенной, аккуратно перемешивают и переносят весь полученный объем в пробирку, содержащую глицерин. Тщательно аккуратно перемешивают и переносят весь полученный объем обратно в пробирку с этикеткой «Конъюгат Белок А\*». Таким образом получают концентрированный раствор конъюгата, который хранят не более 7 суток при температуре минус  $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

ЗАМ. ДИРЕКТОРА

ПО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ

И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ РАБОТЕ

А. К. НИКИФОРОВ

103

Tween-20 – содержимое пробирки растворяют 3 мл ФСБ и тщательно перемешивают пипеткой, не допуская образования пузырей. Раствор хранят в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 7 суток.

Кислота лимонная – сухую навеску растворяют в 16,2 мл воды очищенной. Раствор хранят в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 7 суток.

Натрия цитрат – сухую навеску растворяют в 13,8 мл воды очищенной. Раствор хранят в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 7 суток.

ABTS – сухую навеску растворяют в 0,3 мл воды очищенной. Раствор хранят в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 7 суток.

Гидроперит – таблетку растворяют в 4,5 мл воды очищенной при перемешивании в течение 30 мин, получая 33% раствор перекиси водорода. Хранят в плотно закупоренном флаконе в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 7 суток.

Положительный контрольный образец (ПКО-Ат-Ф1) – сухое вещество растворяют в 20 мкл воды очищенной. Раствор хранят в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 1 сут или в морозильной камере при температуре минус  $(18\pm 2)^\circ\text{C}$ , размораживая перед проведением анализа.

Рабочий раствор конъюгата готовят *ex tempore*. Для этого к 27 мл раствора лактальбумина добавляют 3 мл Tween-20 и перемешивают. Непосредственно перед внесением в лунки добавляют концентрированный раствор конъюгата и тщательно перемешивают.

Субстратную смесь готовят непосредственно перед внесением в лунки. Для этого объединяют 16,2 мл раствора лимонной кислоты и 13,8 мл раствора цитрата натрия, добавляют 0,3 мл раствора ABTS и 24 мкл 33%-ного раствора перекиси водорода.

## 7.2 Постановка ИФА

### 7.2.1 Исследование сывороток крови вакцинированных людей

Из полученных образцов сыворотки готовят разведения в титре 1/80 в объеме 250 мкл, используя ФСБ в качестве разводящей жидкости.

Планшет извлекают из запаянного полиэтиленового пакета и располагают так, чтобы лунка Н1 находилась в левом верхнем углу. Титрование осуществляют по короткому ряду (8 разведений). Исследуемый образец, разведенный ФСБ до диагностического титра (1/80), вносят в объеме 200 мкл в первую лунку каждого титрационного ряда (Н1–Н11). В остальные лунки вносят по 100 мкл ФСБ. Затем, забрав 100 мкл из первой лунки, титруют переносом указанного объема до конца ряда (лунки А1–А11 соответственно). Из последних лунок 100 мкл удаляют. В лунку А12 вносят 95 мкл ФСБ и добавляют 5 мкл ПКО-Ат-Ф1 (положительный контроль) и аккуратно перемешивают. В лунки В12, С12 и D12 вносят по 100 мкл ФСБ (отрицательный контроль). Остальные лунки (Е12–Н12) не участвуют в проведении анализа. Планшет накрывают крышкой и помещают в термостат при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  на  $(60\pm 5)$  мин.

Зам. Директора  
по экспериментальной  
и производственной работе  
А. К. Никифоров



Планшет вынимают из термостата и удаляют содержимое из лунок в емкость для отработанных жидкостей. Затем трижды промывают лунки планшета, наполняя их 200 мкл ФСБ. Для промывки можно использовать промыватель планшет автоматический.

Во все лунки вносят по 100 мкл раствора приготовленного рабочего раствора конъюгата. Планшет накрывают крышкой и помещают в термостат при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  на  $(60 \pm 5)$  минут.

Планшет вынимают из термостата и удаляют содержимое из лунок в емкость для отработанных жидкостей. Затем шесть раз промывают лунки планшета ФСБ, как описано выше.

Во все лунки вносят по 100 мкл субстратной смеси и выдерживают при температуре  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  в течение  $(12 \pm 2)$  мин, после чего производят учет результатов.

При невозможности своевременного учета допускается добавление в лунки 50 мкл 0,1М раствора натрия гидроксида в качестве стоп-реагента, после чего планшет помещают в холодильник при температуре  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ . Учет результатов осуществляют в течение 2 ч.

### **7.2.2 Исследование сывороток/суспензий крови/смывов с органов грудной клетки животных с целью обнаружения антител к Ф1 чумного микроба**

Из предварительно обеззараженных образцов в отдельных пробирках готовят разведения сыворотки/суспензии крови/смыва в диагностическом титре (1/320) в объеме 250 мкл, используя ФСБ в качестве разводящей жидкости.

Планшет извлекают из запаянного полиэтиленового пакета. В лунки планшета последовательно вносят дозатором со сменными наконечниками по 100 мкл исследуемых образцов в 2 повторах. На каждом планшете в лунки В12, С12 и D12 вносят по 100 мкл ФСБ (отрицательный контроль), а в лунку А12 вносят 95 мкл ФСБ, затем – 5 мкл ПКО-Ат-Ф1 (положительный контроль) и аккуратно перемешивают. Планшет накрывают крышкой и помещают в термостат при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  на  $(60 \pm 5)$  минут.

Последующие этапы (промывки, внесение раствора конъюгата и субстратной смеси) выполняют как описано в п. 7.2.1.

### **7.2.3 Исследование сывороток/суспензий крови/смывов с целью определения титра специфических антител к Ф1 чумного микроба**

Из предварительно обеззараженных образцов в отдельных пробирках готовят разведения сыворотки/суспензии крови/смыва в диагностическом титре (1/320) в объеме 250 мкл, используя ФСБ в качестве разводящей жидкости.

Планшет извлекают из запаянного полиэтиленового пакета и располагают так, чтобы лунка Н1 находилась в левом верхнем углу. Титрование осуществляют по короткому ряду. Исследуемый образец, разведенный ФСБ до диагностического титра 1/320, вносят в объеме 200 мкл в первую лунку каждого титрационного ряда (Н1–Н11). В остальные лунки вносят по 100 мкл ФСБ. Затем, забрав 100 мкл из первой лунки, титруют переносом указанного объема до конца ряда (лунки А1–А11 соответственно). Из последних лунок 100 мкл удаляют. В лунку А12 вносят 95 мкл ФСБ и добавляют 5 мкл ПКО-Ат-Ф1 (положительный контроль) и аккуратно перемешивают. В лунки В12, С12 и

D12 вносят по 100 мкл ФСБ (отрицательный контроль). Остальные лунки (E12–H12) не участвуют в проведении анализа. Планшет накрывают крышкой и помещают в термостат при температуре (37±1) °C на (60±5) мин.

Последующие этапы (промывки, внесение раствора конъюгата и субстратной смеси) выполняют как описано в п. 7.2.1.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет изменения окрашивания раствора в лунках осуществляют с использованием мультиканального фотометра при длине волны 405 нм. Перед началом учета содержимое лунок перемешивают осторожным постукиванием по планшету до получения гомогенного зелено-голубого раствора.

Реакция подлежит учету при условии появления зелено-голубого окрашивания в лунке с положительным контрольным образцом, а также отсутствии или наличии слабого зеленоватого окрашивания в отрицательном контроле. При этом значение оптической плотности (ОП) положительного контроля должно не менее чем в 3 раза превышать таковое отрицательного контроля.

При инструментальном учете измеряют оптическую плотность (ОП) в лунках, рассчитывают среднее арифметическое значение в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОПср(К-)). Вычисляют критическое значение оптической плотности (ОПкрит) по формуле: ОПкрит = ОПср(К-) × 3. Результат анализа считают положительным, если ОПобр ≥ ОПкрит. Результат анализа считают отрицательным, если ОПобр < ОПкрит (ОПобр – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом).

Среднее значение ОП отрицательного контроля вычисляется для каждого планшета отдельно. За титр специфических антител принимают максимальное разведение исследуемой пробы, в котором регистрируется положительная реакция.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Для учета результатов реакции используют приведенную ниже таблицу.

| Образец<br>(лунки планшета)                         | Регистрируемое<br>значение ОП | Результат анализа                                                     |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Отрицательный<br>контроль – ФСБ                     | < 0,2                         | Результаты анализа подлежат учету.                                    |
|                                                     | ≥ 0,2                         | Результаты анализа не подлежат учету.<br>Ложноположительный результат |
| Положительный<br>контрольный образец<br>«ПКО-Ат-Ф1» | ≥ ОПкрит                      | Результаты анализа подлежат учету.                                    |
|                                                     | < ОПкрит                      | Результаты анализа не подлежат учету.<br>Ложноотрицательный результат |
| Пробы                                               | < ОПкрит                      | В пробе не выявляются антитела к Ф1 чумного микроба.                  |
|                                                     | ≥ ОПкрит                      | В пробе обнаруживаются антитела к Ф1 чумного микроба.                 |



## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Условия хранения: тест-система «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*» хранится при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С. Срок годности – 6 месяцев.

Рекламации на качество тест-системы «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к чумному микробу (ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*)» в течение срока годности направлять в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микрооб» (410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46; тел. (845-2) 51-59-65).

Зам. директора по экспериментальной  
и производственной работе



Никифоров А.К.

Ректор ГБОУ ВПО  
Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского  
Минздравсоцразвития России



Попков В.М.

Директор ФБУН Саратовский НИИСГ  
Роспотребнадзора



Спирин В.Ф.

В данном документе  
пронумеровано,  
прошнуровано и скреплено  
печатью *9* ли

*Греветь*

Начальник отдела  
делопроизводства

*Р.Н.*

Косолапова Р.Н.







## 10

|                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Назначение и область применения объекта       | Тест-систему иммуноферментную для выявления антител к чумному микробу (ИФА-Ат-Ф1 <i>Yersinia pestis</i> ) предназначена для выявления антител к капсульному антигену фракции 1 (Ф1) чумного микроба в биологическом материале (кровь, сыворотка крови, смывы с органов грудной полости) от потенциальных носителей чумы – представителей отряда Rodentia в непрямом варианте твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).<br>Область применения препарата – клиническая лабораторная диагностика. |
| Дата окончания разработки                     | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Дата освоения объекта в производстве          | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Перечень стран, ведущих в данном виде техники | Россия, США, Германия                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

## 2. Результат проверки патентной чистоты

| Страна проверки | Результат проверки                                                                                                  |                      |                      | Номер и дата отчета о патентных исследованиях, организация-исполнитель |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------|
|                 | Обладает или нет патентной чистотой («Да», «Нет») с указанием даты публикации последних просмотренных документов    |                      |                      |                                                                        |
|                 | изобретения (полезные модели)                                                                                       | товарные знаки       | промышленные образцы |                                                                        |
| 1               | 2                                                                                                                   | 3                    | 4                    | 5                                                                      |
| Россия          | Да. Рефераты изобретений, полные описания. Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели» № 28, 10.10.2011 г. | Проверке не подлежат | Проверке не подлежат | № 15 от 26.10.2011 г., РосНИПЧИ «Микроб»                               |

3.Охранные документы, под действие которых подпадает объект техники

| Наименование и обозначение объекта и его составных частей в соответствии с технической документацией                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Вид охранного документа, страна, номер и начало срока действия | Патенто-владелец (страна, фирма) | Значимость составной части в процентах от стоимости объекта | Номер и дата отчета о патентных исследованиях, организация-исполнитель |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Тест-система «ИФА-Ат-Ф1 <i>Yersinia pestis</i> » содержит: фосфатно-солевой буфер; лактальбумин; конъюгат Белок А*- белок А стафилококковый, конъюгированный с пероксидазой хреналиофилизированный; глицерин; Tween-20; кислоту лимонную; натрия цитрат; ABTS; гидроперит; положительный контрольный образец – иммуноглобулины мыши инбредной линии BALB/c, гипериммунизированной капсульным антигеном Ф1 чумного микроба, выделенные из асцитической жидкости, планшеты полистироловые для иммуноферментного анализа, сенсibilизированные Ф1 чумного микроба с последующей блокировкой раствором лактальбумина. Все компоненты взяты в количестве, необходимом для выполнения анализа. | Не обнаружены                                                  | Не обнаружены                    | —                                                           | № 15 от 26.10.2011 г., РосНИПЧИ «Микроб»                               |

ЗАМ. ДИРЕКТОРА  
ПО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ РАБОТЕ  
А. К. НИКИФОРОВ

#### 4.Правовая защита объекта техники

| Наименование и обозначение объекта и его составных частей в соответствии с технической документацией                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Наименование предмета правовой защиты | Страна защиты, заявитель | Вид охранного документа, номер и начало срока действия | Номер и дата отчета о патентных исследованиях, организация-исполнитель |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Тест-система «ИФА-Ат-Ф1 <i>Yersinia pestis</i> » содержит: фосфатно-солевой буфер; лактальбумин; конъюгат Белок А*- белок А стафилококковый, конъюгированный с пероксидазой хреналиофилизированный; глицерин; Tween-20; кислоту лимонную; натрия цитрат; ABTS; гидроперит; положительный контрольный образец – иммуноглобулины мыши инбредной линии BALB/c, гипериммунизированной капсульным антигеном Ф1 чумного микроба, выделенные из асцитической жидкости, планшеты полистироловые для иммуноферментного анализа, сенсibilизированные Ф1 чумного микроба с последующей блокировкой раствором лактальбумина. Все компоненты взяты в количестве, необходимом для выполнения анализа. | —                                     | —                        | —                                                      | № 15 от 26.10.2011 г., РосНИПЧИ «Микроб»                               |

ЗАМ. ДИРЕКТОРА  
ПО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ РАБОТЕ  
А. К. НАКИФОРОВ



В данном документе  
пронумеровано,  
прошнуровано и скреплено  
печатью 4 лист

(четыре)

Начальник отдела  
делопроизводства

Кособлапова Р.Н.





ПАСПОРТ № 58

«Тест-система иммуноферментная для выявления антител к чумному микробу  
(ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*)»

Серия № 06

Дата выпуска 10.11 г.

Годен до IV.12 г.

| Наименование показателя  | Нормы по проекту<br>ТУ 9388-041-01898109-2011                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Результата<br>контроля |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Внешний вид              | ФСБ – порошок белого цвета. Лактальбумин – порошок кремового цвета. Конъюгат Белок А* – аморфная масса коричневатого цвета. Глицерин – вязкая прозрачная жидкость. Tween-20 – вязкая желтоватая жидкость. Кислота лимонная – порошок белого цвета. Натрия цитрат – порошок белого цвета. АВТС – порошок бледно-зеленого цвета. Гидроперит – таблетка белого цвета. ПКО-Ат-Ф1 – аморфная масса желтоватого цвета.                                                                                                                              | Соотв.                 |
| Растворимость            | ФСБ должен растворяться в воде очищенной в течение (10±2) мин без образования осадка. Лактальбумин должен растворяться в 3 мл ФСБ в течение (10±2) мин с образованием гомогенного мутного беловатого раствора. Конъюгат Белок А* должен растворяться в воде очищенной в течение (2±1) мин без образования осадка. Кислота лимонная, натрия цитрат и АВТС должны растворяться в воде очищенной в течение (4±1) мин без образования осадка. Гидроперит должен растворяться в 4,5 мл воды очищенной в течение (25±5) мин без образования осадка. | Соотв.                 |
| рН                       | ФСБ – 7,3±0,1. Цитратный буфер – 4,2±0,2.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 7,4                    |
| Специфическая активность | Тест-система должна выявлять специфические антитела класса IgG к капсульному антигену Ф1 <i>Y. pestis</i> в биологических жидкостях представителей отряда Rodentia в диагностическом титре 1:160 и более. Тест-система не должна давать положительных результатов с биологическими жидкостями представителей отряда Rodentia, не содержащими соответствующие антитела, в разведении 1:160 и более.                                                                                                                                            | Соотв.                 |

Заключение ОБТК: Сер.06 «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к чумному микробу (ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*)» соответствует требованиям проекта ТУ 9388-041-01898109-2011

М.п.

Заведующий ОБТК  
01.11.11 г.



*Handwritten signature*

О.А. Лобовикова

ПАСПОРТ № 57

«Тест-система иммуноферментная для выявления антител к чумному микробу  
(ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*)»

Серия № 05  
Дата выпуска 10.11 г.

Годеи до IV.12 г.

| Наименование показателя  | Нормы по проекту<br>ТУ 9388-041-01898109-2011                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Результата<br>контроля |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Внешний вид              | ФСБ – порошок белого цвета. Лактальбумин – порошок кремового цвета. Конъюгат Белок А* – аморфная масса коричневатого цвета. Глицерин – вязкая прозрачная жидкость. Tween-20 – вязкая желтоватая жидкость. Кислота лимонная – порошок белого цвета. Натрия цитрат – порошок белого цвета. АВТС – порошок бледно-зеленого цвета. Гидроперит – таблетка белого цвета. ПКО-Ат-Ф1 – аморфная масса желтоватого цвета.                                                                                                                              | Соотв.                 |
| Растворимость            | ФСБ должен растворяться в воде очищенной в течение (10±2) мин без образования осадка. Лактальбумин должен растворяться в 3 мл ФСБ в течение (10±2) мин с образованием гомогенного мутного беловатого раствора. Конъюгат Белок А* должен растворяться в воде очищенной в течение (2±1) мин без образования осадка. Кислота лимонная, натрия цитрат и АВТС должны растворяться в воде очищенной в течение (4±1) мин без образования осадка. Гидроперит должен растворяться в 4,5 мл воды очищенной в течение (25±5) мин без образования осадка. | Соотв.                 |
| pH                       | ФСБ – 7,3±0,1. Цитратный буфер – 4,2±0,2.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 7,4                    |
| Специфическая активность | Тест-система должна выявлять специфические антитела класса IgG к капсульному антигену Ф1 <i>Y. pestis</i> в биологических жидкостях представителей отряда Rodentia в диагностическом титре 1:160 и более. Тест-система не должна давать положительных результатов с биологическими жидкостями представителей отряда Rodentia, не содержащими соответствующие антитела, в разведении 1:160 и более.                                                                                                                                            | Соотв.                 |

Заключение ОБТК: Сер.05 «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к чумному микробу (ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*)» соответствует требованиям проекта ТУ 9388-041-01898109-2011



О.А. Любовикова

В данном документе  
пронумеровано,  
прошнуровано и скреплено  
печатью 2 листс

Начальник отдела  
делопроизводства

Косолапова Р.Н.

