

СОГЛАСОВАНО

Директор ФИЦ ФТМ
академик РАН, д.м.н., профессор

М.И. Воевода

«17» июля 2022 г.

М.П.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова

2022 г.

М.П.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO

Набор реагентов для иммуноферментного определения иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови человека «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-167-41390295-2022

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

1.1. Назначение набора

Набор реагентов для иммуноферментного определения иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови человека «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-167-41390295-2022 предназначен для качественного определения иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий в сыворотке и плазме (с ЭДТА, гепарином или цитратом натрия) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» рекомендуется применять для:

- диагностики лямблиоза.
- для диагностики *in vitro*.

1.2. Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

Набор реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» предназначен для профессионального применения. Потенциальные потребители изделия: Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных болезней человека III-IV группы патогенности.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей.

Набор предназначен для использования персоналом клинико-диагностических лабораторий с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, прошедшим подготовку/инструктаж по вопросам обеспечения требований биологической безопасности, проведенный сотрудниками организаций и учреждений Роспотребнадзора, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней человека III-IV группы патогенности. Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ. КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА.

2.1. Состав набора реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА»:

Таблица №1. Состав набора реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА»

Название компонента	Описание компонента	Состав набора
Иммуносорбент	96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированными рекомбинантными антигенами лямблий	1 шт.
К(+)	Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины классов М(IgM) к антигенам лямблий. Прозрачная жидкость желтого цвета <i>Содержит проклин-300 (0,1 %).</i> Готов к применению.	1 флакон (1,5 мл)
К(-)	Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины классов М(IgM) к антигенам лямблий. Прозрачная жидкость синего цвета <i>Содержит проклин-300 (0,1 %).</i> Готов к применению	1 флакон (2,5 мл)
ФСБ-Т (x26)	Концентрат промывочного раствора, 26- кратный. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. <i>Содержит концентрат фосфатно-солевого буфера, бензоат натрия (0,2 %).</i> Требует разведения	1 флакон (30,0 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость фиолетового цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1 %).</i> Готов к применению	1 флакон (12,0 мл)
РК	Раствор антител против иммуноглобулинов класса М (IgM) человека с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость зеленого цвета. <i>Содержит фосфатно-солевой буфер, стабилизаторы, фенол (0,2 %)</i> Готов к применению	1 флакон (13,0 мл)
ТМБ	Раствор ТМБ. Прозрачная бесцветная жидкость. <i>Содержит тетраметилбензидин, стабилизаторы, диметилсульфоксид. бензоат натрия – 0,2 %</i> Готов к применению	1 флакон (13,0 мл)
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость. <i>Содержит кислоту серную (1,0 моль/литр).</i> Готов к применению	1 флакон (12,0 мл)
Пленка для заклеивания планшета		2 шт.
Ванночка для реагентов		2 шт.
Наконечники объемом до 200 мкл		16 шт.
Инструкция по применению набора реагентов		1 шт.

2.2. Комплектность набора.

Набор реагентов выпускается в одном варианте комплектации:

Комплект рассчитан на 96 определений, включая контрольные образцы, с использованием анализатора автоматического иммуноферментного открытого типа или с помощью ручной постановки анализа.

Возможны отдельные независимые постановки анализа с необходимым количеством стрипов или лунок **Иммуносорбента**.

2.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов – непрямой двухстадийный твердофазный иммуноферментный анализ. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы рекомбинантные антигены лямблий. В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgM антител к антигенам лямблий образуется комплекс (антиген-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с рабочим раствором конъюгата (антитела к IgM человека, меченные пероксидазой хрена). При добавлении рабочего раствора ТМБ в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением **Стоп-реагента**. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству IgM к антигенам лямблий в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

3. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1. Аналитические характеристики

3.1.1. Чувствительность набора реагентов

Чувствительность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-Giardia lamblia контрольная панель» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100 % без ложноотрицательных результатов.

3.1.2. Специфичность набора реагентов

Специфичность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток

«Анти-Giardia lamblia контрольная панель» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100 % без ложноположительных результатов.

3.1.3. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний повторяемость определялась для трех положительных образцов в 30 повторях на трех сериях набора реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА». Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения ОП не превысили 8 %.

В рамках проведения технических испытаний повторяемость определялась для восьми повторов K(+). Коэффициент вариации измерения оптической плотности K(+) в восьми повторях на наборе реагентов не превысил 8 %.

В рамках проведения клинических испытаний повторяемость определялась для 6 образцов сыворотки крови и 6 образцов плазмы крови человека. Внутрисерийный коэффициент вариации результатов образцов каждого типа в 10 повторях одной серии не превышает 8 %. Межсерийный коэффициент вариации результатов в одном и том же образце для каждого типа образца на наборе реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» не превысил 8 %.

3.1.4. Правильность

Правильность определения положительного контроля в ходе проведения клинических испытаний набора реагентов составила 100%.

3.2. Диагностические характеристики.

3.2.1. Перекрестная реактивность

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 195 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ, не содержащих иммуноглобулины классов M(IgM) к антигенам лямблий и отобранных образцов сывороток содержащих антитела к различным инфекционным агентам: *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas vaginalis*, *Opisthorchis felinus*, *Ascaris lumbricoides*, *Echinococcus granulosus*, *Toxocara canis*, беременных женщин. Результаты ИФА показали, что неспецифические взаимодействия рекомбинантных антигенов вируса лямблиоза с антителами различных инфекционных агентов маловероятны.

3.2.2. Интерферирующие вещества

На результат анализа не оказывают влияние гемоглобин (от 100,0 до 300,0 г/л), холестерин (от 1,5 до 4 г/л), общий белок (от 60,0 до 150,0 г/л), глюкоза (от 800,0 до 2000,0 мг/л), триглицериды (от 1,5 до 10,0 г/л), этанол (от 100,0 до 2000,0 мг/л), мочевины (от 90,0 до 800,0 мг/л), молочная кислота (от 63,0 до 400,0 мг/л) и общий билирубин (от 10,0 до 300,0 мг/л) в клинических образцах.

3.2.3. Эквивалентность

В рамках проведения внутренних испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке анализа на сыворотке и плазме (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента проводили на образцах сыворотки крови человека, не содержащих и содержащих иммуноглобулины классов M(IgM) к антигенам лямблий методом ИФА при постановке по процедуре №1 (термошейкер) и процедуре №2 (термостат).

3.2.4. Воспроизводимость

Для определения правильности анализа будет проведена оценка результатов повторяемости анализа в трех лабораториях. Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов набора реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» при исследовании положительных образцов, содержащих иммуноглобулины классов M(IgM) к антигенам лямблий, не должен превышать 8,0 %.

3.2.5. Стабильность

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для подтверждения срока годности и условий хранения набора «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА».

В результате установлено, набор «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8 °С в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после транспортирования при температуре от 2 до 28 °С в течении 10 дней и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и хранения их при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 месяца после окончания срока годности.

Воздействие температуры не выше 28 °С в течение 10 суток не влияет на характеристики набора реагентов. Допускается транспортирование при температуре не выше 28 °С в течение 10 суток.

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранится в течение 10 суток при температуре от 18 до 28 °С или 45 суток при температуре от 2 до 8 °С.

3.2.6. Диагностическая чувствительность набора реагентов

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность выявления иммуноглобулинов классов M(IgM) к антигенам лямблий определяли на 202 положительных образцах, показана 100 % чувствительность (ДВ 95%, ДИ: 98,52% - 100%).

3.2.7. Диагностическая специфичность набора реагентов

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность выявления иммуноглобулинов классов M(IgM) к антигенам лямблий определяли на 385 отрицательных образцах, показана 100 % специфичность (ДВ 95%, ДИ: 99,22% - 100%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 2б.

4.2. Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». При работе с набором реагентов требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.3. Так как контрольные и анализируемые образцы, компоненты набора реагентов являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток).

4.4. Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.

4.5. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления положительных контролей, инаktivирована нагреванием при температуре (56±1)°С в течение 3 ч, содержит иммуноглобулины классов M(IgM) к антигенам лямблий и не содержат ВИЧ-1, 2, ВГС и HBsAg.

4.6. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления отрицательного контроля, инаktivирована нагреванием при температуре (56±1)°С в течение 3 ч, не содержит иммуноглобулины классов M(IgM) к антигенам лямблий, антитела к ВИЧ-1,2, ВГС и HBsAg.

4.7. В состав компонентов К(+), К(-), РРО, РК, ТМБ, ФСБ-Т(x26) входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. К(+), К(-), РРО – 0,1% Проклина 300; РК – 0,1% фенола; ТМБ – 0,03% бензоата натрия; ФСБ-Т(x26) – 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

4.8. Стоп-реагент обладает раздражающим действием, за счет кислоты серной (5%) входящей в состав. При работе избегать попадания Стоп-реагента на кожу и

слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики «in vitro». Все реактивы в используемых концентрациях, входящие в состав компонентов набора реагентов - нетоксичные.

4.9. Все промывные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.

4.10. Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер. обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.11. Лабораторную посуду многоразового использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество ИФА.

4.12. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70 % раствором этилового спирта.

5. ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ

5.1. Выполнять процедуру анализа следует в строгом соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов.

5.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

5.3. Не использовать реагенты других производителей.

5.4. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа, кроме неспецифических компонентов набора (смотри п. 2.2).

5.5. Не подвергать реагенты воздействию высоких температур и прямых солнечных лучей в процессе использования и хранения.

5.6. Недопустимо замораживание набора реагентов, как целиком, так и отдельных ее компонентов.

5.7. Исследования проводить в помещении с комнатной температурой (в соответствии с действующей нормативной документацией).

5.8. Не проводить исследования в присутствии паров щелочей, кислот, альдегидов, в запыленном помещении.

5.9. Для дезинфекции использовать реагенты, не оказывающие воздействия на ферментативную реакцию: дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

5.10. В помещении, где проводится исследование, не использовать дезинфицирующие средства, содержащие активный кислород и хлор.

5.11. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

5.12. Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

5.13. При работе с образцами и реагентами набора использовать чистые, новые одноразовые наконечники отдельно для каждого анализируемого образца и компонента набора реагентов.

5.14. При частичном использовании набора реагентов запрещено сливать остатки неиспользованного компонента набора обратно во флакон.

5.15. Исключить контакт металлических предметов с ТМБ.

5.16. Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

5.17. Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую, после промывки, для ТМБ.

5.18. Рекомендуется для отбора ТМБ использовать разные дозаторы пипеточные. При использовании одного дозатора необходимо тщательно следить за чистотой посадочного конуса дозатора. Перед сменой реагента тщательно обрабатывать внутреннюю и внешнюю поверхности посадочного конуса 70% этиловым спиртом.

5.19. Для отмывки **Иммуносорбента** рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости дистиллированной (деионизированной) водой. Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- термогигрометр, позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне $0-30^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, относительную влажность – 20-90%.

- дозаторы лабораторные переменного объема одно- и многоканальные вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- наконечники одноразовые к дозаторам лабораторным вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- ванночки для разведения компонентов;

- микроцентрифуга лабораторная на 1000-3000 об/мин;

- термостатирующее устройство для планшетов (или термостат) с режимом термостатирования $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ или орбитальный термошейкер, поддерживающий температуру $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и с частотой вращения платформы 700 об/мин.;

- орбитальный термошейкер, поддерживающий температуру $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и с частотой вращения платформы 700 об/мин.

- устройство для промывания планшета (вошер);

- спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий выполнять измерения оптической плотности содержимого лунок планшета при 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр) или анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;

- холодильная или морозильная камера;

- цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;

- емкость с крышкой для жидкого дез.средства;

- вода дистиллированная;

- бумага фильтровальная;

- таймер;

- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;

- лабораторная посуда.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

7.1. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца - 10 мкл.

7.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови до анализа ИФА хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8 °С. Длительное хранение (до 6 месяцев) анализируемых образцов осуществлять при температуре минус 20 °С.

7.3. Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27 °С) тщательно перемешать для устранения, возникающего при заморозке градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждая последующая заморозка-разморозка снижает качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования, производитель набора реагентов рекомендует использовать только однократное замораживание-размораживание образцов, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

7.4. Не рекомендуется использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным загрязнением («проростом»).

7.5. Образцы, содержащие осадок, взвешенные частицы, перед анализом подвергнуть центрифугированию в течение 10 мин при частоте вращения 3000 об/мин.

Внимание!

Перед подготовкой реагентов к работе и проведением исследования производитель настоятельно рекомендует еще раз прочитать раздел «Обеспечение качества исследований» настоящей инструкции по применению.

8. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

8.1. Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный Иммуносорбент.

Выдержать компоненты в течение 30 мин при температуре от 18 до 28 °С, аккуратно перемешать.

Внимание! К (+), К(-), РРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные **К (+), К(-), РРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Компонент **ФСБ-Т (x26)** представлен в виде концентрата. Требуют разведения.

8.2. Подготовка Иммуносорбента

Вскрыть пакет с Иммуносорбентом. Установить в рамку Иммуносорбента необходимое количество стрипов. Неиспользуемые в данной постановке стрипы сразу после вскрытия пакета с планшетом поместить в фольгированный пакет с застежкой типа zip-lock. Из пакета удалить остаточный воздух, закрыть застежку, убрать в холодильную камеру.

Хранить неиспользованные стрипы при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора реагентов.

Рамку планшета сразу после использования промыть дистиллированной водой. Затем – 70% этиловым спиртом и повторно дистиллированной водой. Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

8.3. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора (ФСБ-Т (x26)) возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с ФСБ-Т (x26) выдержать при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ до полного растворения солей.

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т готовят следующим образом: в колбе смешивают содержимое флакона ФСБ-Т (x26) с 750 мл воды дистиллированной.

При использовании одного или нескольких стрипов Иммуносорбента необходимое количество рабочего промывочного раствора ФСБ-Т приготовить в соответствии с таблицей 2.

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранить при температуре от 18 до 28°C не более 10

дней или при температуре от 2 до 8°C не более 45 дней.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора (ФСБ-Т (x26)) хранить в упаковке

производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Таблица №2. Сводная таблица приготовления рабочих растворов

Количество используемых стрипов, шт.	Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	
	ФСБ-Т (x26), мл	Вода*, мл
1	2,0	до 50,0
2	4,0	до 100,0
3	6,0	до 150,0
4	8,0	до 200,0
5	10,0	до 250,0
6	12,0	до 300,0
7	14,0	до 350,0
8	16,0	до 400,0
9	18,0	до 450,0
10	20,0	до 500,0
11	22,0	до 550,0
12	30,0	до 750,0

Примечание: * вода дистиллированная

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Таблица №3. Постановка анализа по процедуре №1 (с использованием термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 100,0 мкл К(+), внести в две лунки по 100,0 мкл К(-).	
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90,0 мкл РРО, а затем по 10,0 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и

		РРО может привести к искажению результата исследования.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 мин в орбитальном термошейкере при скорости вращения 700 об/мин при температура инкубации: 37± 1°C	
5	Три раза промыть планшет, рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400,0 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. Использовать режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки. При отсутствии возможности использовать режим перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз . По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100,0 мкл РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 мин в орбитальном термошейкере при скорости вращения 700 об/мин при температура инкубации: 37± 1°C	
8	Три раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400,0 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. Использовать режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки. При отсутствии возможности использовать режим перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз . По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100,0 мкл ТМБ	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин в орбитальном термошейкере при скорости вращения 700 об/мин при температура инкубации: 37± 1°C	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100,0 мкл Стоп-реагента	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм .	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции

Таблица №4. Постановка анализа по процедуре №2 (с использованием термостата)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 100,0 мкл К(+) , внести в две лунки по 100,0 мкл К(-) .	
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90,0 мкл РРО , а затем по 10,0 мкл	Время внесения образцов при использовании всего планшета не

	анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин в термостате, температура инкубации: 37± 1°C	
5	Три раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400,0 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. Использовать режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки. При отсутствии возможности использовать режим перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз . По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100,0 мкл РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин в термостате, температура инкубации: 37± 1°C	
8	Три раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400,0 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. Использовать режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки. При отсутствии возможности использовать режим перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз . По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100,0 мкл ТМБ	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин в термостате, температура инкубации: 37± 1°C . Возможна инкубация при комнатной температуре в защищённом от света месте.	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100,0 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	<u>Внимание!</u> Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить так же, как и для ручной постановки анализа.

10. РАСЧЕТЫ

Результаты регистрируют при помощи спектрофотометра вертикального сканирования.

Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм или используя два фильтра – 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр).

Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху.

10.1. Критерии правильности теста

Для определения соответствия полученных результатов измерений критериям правильности теста рассчитывают отдельно средние значения ОП в лунках с К(-):

$$\text{ОП К(-) среднее} = \frac{(\text{ОП К(-)}_1 + \text{ОП К(-)}_2)}{2}$$

Значение ОП К(-) среднее должно быть не более 0,200!

$$\text{ОП К(+)} \text{ среднее} = \frac{(\text{ОП К(+)}_1 + \dots + \text{ОП К(+)}_8)}{8}$$

Значение ОП К1(+) среднее должно быть не менее 0,500!

На основании полученных данных вычислить граничное значение оптической плотности (ОП_{крит.}) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = (\text{ОП К(-)} \text{ среднее}) + 0,200$$

*0,200 – коэффициент, определенный методом статистической обработки результатов исследований на предприятии-изготовителе.

Или рассчитайте коэффициент позитивности КП:

$$\text{КП} = \text{ОП}_{\text{образца}} / \text{ОП}_{\text{крит}}$$

10.2. Интерпретация результатов

Если КП тестируемого образца меньше (<) 0,8, результат исследования образца считают отрицательным: иммуноглобулины классов М(IgM) к антигенам лямблий не обнаружены.

Если КП тестируемого образца больше или равно ($\geq$) 1,2, результат исследования образца считают положительным: иммуноглобулины классов М(IgM) к антигенам лямблий обнаружены.

Если КП тестируемого образца больше или равно ($\geq$) 0,8 и меньше (<) 1,2, результат исследования образца считают пограничным.

В случае пограничного результата рекомендуется повторно исследовать эти образцы параллельно с образцами данных пациентов, взятых через 2-4 недели.

Для оценки титра образца определите диапазон, в который попадает значение КП образца:

Таблица № 5. Ориентировочное соответствие коэффициента позитивности (КП) и титра исследуемой сыворотки

Значение КП	Результат
меньше 0,79	отрицательный
от 0,8 до 1,19	пограничный
от 1,20 до 2,00	Положительный, образец с титром иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий 1:100
от 2,01 до 4,00	Положительный, образец с титром иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий 1:200
от 4,01 до 8,00	Положительный, образец с титром

	иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий 1:400
от 8,01 до 16,00	Положительный, образец с титром иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий 1:800
больше 16	Положительный, образец с титром иммуноглобулинов классов М(IgM) к антигенам лямблий 1:1600

11. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

11.1. Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

11.2. Все промывные растворы, собранные в специальный контейнер и обработанные дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке, следует утилизировать как отходы класса Б.

11.3. Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий», следует утилизировать как отходы класса Б.

11.4. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукomплектовать.

11.5. Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.

11.6. Неиспользованные К(+), РК иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

11.7. Неиспользованные ТМБ и стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

11.8. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ ТЕСТА

Следует помнить, что результаты тестирования на антитела не могут быть единственным критерием для диагностики или исключения Лямблиоза, или для определения статуса инфекции.

Отрицательный результат исследования при наличии инфицирования лямблиями возможен:

- в инкубационный и начальный периоды заболевания;

- у пациентов со слабым иммунным ответом (состояние иммуносупрессии).

Ложноположительный результат исследования нельзя исключить возможность перекреста иммунологических реакций при заболеваниях описторхозом, аскаридозом, трихинеллёзом и эхинококкозом, токсокарозом. Это может быть связано как с совместной инвазией, так и с взаимодействием антител с гетерологичным антигеном за счет иммунологических перекрестов между антигенами.

Постановка диагноза проводит лечащий врач с учетом изучения полной клинической картины.

13. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в таблице №6.

Таблица №6. Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов

Срок годности набора реагентов	24 месяца	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Внимание! Замораживание не допускается
Транспортировка	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8° С
	10 суток	при температуре до 28°C
Вскрытые компоненты: К (+), К(-), ФСБ-Т (x26), ТМБ, РК, РРК РРО, Стоп-реагент, Иммуносорбент	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8° С
Рабочий промысловый раствор ФСБ-Т	не более 10 суток	при температуре от 18 до 28°C
	не более 45 суток	при температуре от 2 до 8°C

14. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «Лямблия IgM -ИМБИАН-ИФА» требованиям нормативной и технической документации, а также качество и безопасность продукта в течение всего срока годности.

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов направлять в адрес

предприятия-изготовителя: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, обл. Новосибирская, р.п. Кольцово, Садовая, дом 2/7, этаж 2 помещ. 2

Тел. +7(383)2130071, info@imbian.ru, www.imbian.ru.

15. ФОРМА ПОДАЧИ РЕКЛАМАЦИЙ

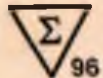
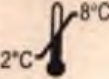
Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставить:

- рекламационный набор реагентов с сопроводительным письмом, содержащим информацию о выявленных несоответствиях;
- исследуемые образцы;

- протоколы исследований, выполненных другим методом (указать наименование, серию, срок годности набора);
- протоколы исследований, выполненных референсным набором (указать наименование, серию, срок годности набора).

16. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

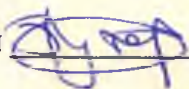
Таблица № 7. Символы, применяемые при маркировке

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Использовать до		Запрет на повторное применение
	Дата изготовления		Осторожно!
	Код партии		Не допускать воздействия солнечного света
	Номер по каталогу		Содержимого достаточно для проведения 96 тестов
	Обратитесь к инструкции по применению		Символ изготовителя
	Предел температуры		Не использовать при поврежденной упаковке
	Беречь от влаги		Биологический риск
	Н302: Вредно при проглатывании Н315: При попадании на кожу вызывает раздражение Н319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		Медицинское изделие для диагностики in vitro

17. ШТРИХКОД

Таблица № 7. Штрихкод набора реагентов «Лямблия IgM-ИМБИАН-ИФА»

№ комплекта	Штрихкод
Комплект	4 620102 803437

Разработал  Д.В. Буторин

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

15 лист 08

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова

17 июля 2022 г

