

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2023 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам

Ascaris lumbricoides в сыворотке (плазме) крови

«Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ»

(комплект 2/Чароит)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* в сыворотке (плазме) крови **«Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ»** (далее по тексту – набор) предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к антигенам *Ascaris lumbricoides* в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Набор может быть использован как вспомогательное средство при диагностике аскаридозе.

1.2. Комплект 2/Чароит рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможно дробное использование набора (не более трёх постановок). Комплект предназначен для использования в анализаторе иммуноферментном автоматическом «Чароит» (Charoite) с принадлежностями.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ.

На первой стадии анализа при взаимодействии исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами *Ascaris lumbricoides* происходит связывание специфических антител и образование комплекса «антиген-антитело» на поверхности лунок. На второй стадии конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена взаимодей-

ствуется с комплексами «антиген-антитело». При инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело-конъюгат». Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG - антител к антигенам *Ascaris lumbricoides* в анализируемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) Описание	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными антигенами <i>Ascaris lumbricoides</i>	1 шт.
Положительный контрольный образец (К+) Содержит IgG к антигенам <i>Ascaris lumbricoides</i> . Содержит натрия азид (0,1 %).	1 фл., 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (К-) Не содержит IgG к антигенам <i>Ascaris lumbricoides</i> . Содержит натрия азид (0,1 %).	1 фл., 2,5 мл
Конъюгат Конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. Содержит натрия мертиолят (0,015 %).	1 фл., 13,0 мл
Раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) Содержит ProClin 300 (0,02 %).	1 фл., 15,0 мл
Раствор для разведения сывороток (РРС) Содержит натрия азид (0,1 %).	1 фл., 12,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) Содержит ProClin 300 (0,25 %).	1 фл., 28,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,025 %).	1 фл., 13,0 мл
Стоп-реагент Содержит кислоту серную (4,9 %).	1 фл., 12,0 мл
Схема расположения флаконов в штативе	1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ*

3.1. Титр стандартного образца предприятия СОП⁺ (СОП № 05-2-215) должен быть не менее 1:800.

3.2. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

– 56 серопозитивных образцов сыворотки или плазмы (с Li-гепарином или с цитратом натрия или с К2ЭДТА или с К3ЭДТА) крови, содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, и составила 100% (интервал 94,79%-100% с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

– 89 серонегативных образцов сыворотки крови, не содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, и составила 100 % (интервал 96,7%-100% с доверительной вероятностью 95 %);

– 50 серонегативных образцов плазмы крови (с Li-гепарином или с цитратом натрия или с К2ЭДТА или с К3ЭДТА), не содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, и составила 100%

(интервал 94,2%-100% с доверительной вероятностью 95 %).

3.3. Аналитическая специфичность:

При анализе 64 образцов клинического материала, свободных от иммуноглобулинов класса G (IgG) к антигенам *Ascaris lumbricoides*, но содержащих иммуноглобулины класса IgG к антигенам описторхисов или к антигенам трихинелл, или к антигенам эхинококка, или к антигенам токсокар, показано отсутствие ложнопозитивных результатов.

3.4. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 5,0 мг/мл; билирубин в концентрации до 0,4 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 10 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* в испытываемых наборах реагентов.

3.5. Воспроизводимость

Воспроизводимость анализа была оценена при тестировании на различных типах анализируемых образцов, содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, в 8 повторях каждый. Коэффициент вариации значений оптической плотности (ОП), определенных наборами (в т.ч. разными) одной серии и разных серий не превышал 8 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

4.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 300, натрия азид, натрия мертиолят, кислоту серную, тетраметилбензидин в концентрациях, указанных в п. 3.2. «Состав набора».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) 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».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.7. Противопоказания: не применимо, изделие предназначено для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- Анализатор иммуноферментный автоматический «Чароит» (Charoite) с принадлежностями;
- холодильник бытовой;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (с Li-гепарином, цитратом натрия, К2ЭДТА и К3ЭДТА) крови человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови следует хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток, или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. Допускается однократное замораживание. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.4. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием при 1000-1500 об/мин в течение 5 мин при температуре 18-25°С.

6.5. Образцы с присутствием выраженного гемолиза и коагуляции (наличие сгустков) не подходят для тестирования.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Внимание! *Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °C не менее 30 мин.

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2–8) °C, использовать в течение всего срока годности набора.

– Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2–30) °C в течение всего срока годности набора.

– При дробном использовании набора нельзя использовать компоненты из разных наборов даже одной серии или смешивать их при объединении остатков набора, поскольку автоматический анализатор контролирует использованный объем раствора.

– Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

– Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Промывочный раствор.

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогреть его перед разведением при температуре (30–40) °C до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (например, содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 (28,0 мл) довести дистиллированной водой до 700 мл).

Хранение: *промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °C не более 30 суток или при температуре (18–26) °C не более 7 суток.*

7.3. Контрольные образцы, конъюгат, раствор ТМБ и стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! *Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °C не менее 30 минут.*

8.1. Отделить нижнюю часть штатива путем одновременного нажатия на боковые замки.

Вскрыть флаконы с компонентами, сохраняя их расположение в штативе (см. схему расположения флаконов в штативе). Крышки разместить в гнездах нижней части штатива в точном соответствии с расположением соответствующих флаконов.

Внимание! Категорически запрещено менять места расположения флаконов с реактивами в штативе!

8.2. Соединить обе части штатива таким образом, чтобы боковые пазы верхней и нижней частей штатива совпали. Собранный штатив поместить в картридж штатива для реагентов таким образом, чтобы сторона со штрих-кодами располагалась в большом окошке картриджа (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.2).

8.3. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности набора.

8.4. Планшет с необходимым для работы количеством стрипов поместить в рамку-держатель планшетов в точном соответствии с маркировкой рамки-держателя (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.4).

8.5. Подготовить прибор к работе, как описано в Руководстве по эксплуатации автоматического иммуноферментного анализатора «Чароит».

8.6. Перелить готовый промывочный раствор в любую из емкостей анализатора с маркировкой А, В, С и D. По запросу прибора указать, в какой именно ёмкости (маркировка) находится промывочный раствор.

Внимание! Категорически запрещено заливать промывочный раствор в емкость с маркировкой E, предназначенную для моющего раствора!

8.7. Установить в ИФА-анализатор картридж с реагентами, рамку-держатель с планшетом и необходимые расходные материалы: штативы с наконечниками для образцов, наконечниками для реагентов, контейнерами для перемешивания реагентов, стрипами для предварительного разведения (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 4.5).

8.8. Загрузить в ИФА-анализатор штативы с пробирками с исследуемыми образцами.

8.9. Все дальнейшие манипуляции проводить в полном соответствии с Руководством по эксплуатации автоматического ИФА-анализатора «Чароит».

8.10. Сразу по окончании работы, в случае дробного использования набора, флаконы с неизрасходованными реагентами плотно закрыть соответствующими крышками и хранить при температуре (2–8) °С.

Внимание! При постановке на автоматическом ИФА-анализаторе «Чароит» допускается дробное использование набора с возможностью проведения не более 3-х независимых постановок ИФА.

9. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОТОКОЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА, УЧЁТЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Приготовление реагентов

Реагент в рабочем разведении	Концентрат реагента	Разводящий раствор	Соотношение частей концентрата и разводящего раствора
Промывочный раствор	Концентрат фосфатно-со- левого буферного рас- твора с твином (ФСБ- Т×25)	Дистиллированная вода, отсутствует в составе набора	1+24

9.2. Схема ИФА

Действие	Характеристика
1. Прогрев компонентов набора до темпера- туры (18–26) °С	30 минут
2. Подготовка промывочного раствора	п. 7.2, п. 9.1
3. Предварительное разведение исследуемых образцов	по 90 мкл РПРС и по 10 мкл цельного образца в лунку стрипа для предварительного разве- дения
4. Внесение положительного контрольного образца (K ⁺)	100 мкл в лунку
5. Внесение отрицательного контрольного образца (K ⁻)	- по 100 мкл в 2 лунки
6. Внесение исследуемых образцов	по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенного образца в каждую лунку
7. Инкубация	(37±1) °С, 30 минут
8. Промывка планшета	промывочным раствором 5 раз по 400 мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек, по окончании промывки кре- стообразная аспирация (режим «crosswise» или «cross aspiration»)
9. Внесение конъюгата	по 100 мкл в каждую лунку
10. Инкубация	(37±1) °С, 30 минут
11. Промывка планшета	промывочным раствором 5 раз по 400 мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек, по окончании промывки кре- стообразная аспирация (режим «crosswise» или «cross aspiration»)

12. Внесение раствора ТМБ	по 100 мкл в каждую лунку
13. Инкубация	(18–26) °С, 25 минут
14. Внесение стоп-реактента	по 100 мкл в каждую лунку
15. Регистрация результатов	ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм

9.3. Учёт и интерпретация результатов

Условия правильности ИФА	ОП К ⁺ ≥ 0,80; ОП К ⁻ ≤ 0,25
Вычисление ОП _{крит.}	ОП _{крит.} = ОП _{ср.} К ⁻ + 0,25
Интерпретация результатов: Положительный Отрицательный Неопределенный	ОП _{обр.} ≥ ОП _{крит.} ОП _{обр.} ≤ 0,85 × ОП _{крит.} 0,85 × ОП _{крит.} < ОП _{обр.} < ОП _{крит.}
Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле: КП = ОП _{обр.} / ОП _{крит.}	

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.2. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные

характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ» (комплект 2/Чароит) обращаться:

в АО «Вектор-Бест» по адресу: 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121.

тел. (383) 227-67-64, (383) 363-35-56.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Осторожно!
	Содержимого достаточно для проведения п тестов		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии		Предел температуры
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до		Обратитесь к инструкции по применению
YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате: Год-Месяц-День Год-Месяц		

Нач. лаборатории
диагностики паразитарных инфекций НИИ СД
АО «Вектор-Бест»



Т.Н. Ткаченко

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»



М.Ю. Рукавишников

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор



Т.И. Пospelova



Пропиновано, пронумеровано и
скреплено печатью 10 листов.
Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

 Захарова Л.Н.
"08" 12 20 23 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

2023 г.

М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного

выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам

Ascaris lumbricoides в сыворотке (плазме) крови

«Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ»

(комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* в сыворотке (плазме) крови «Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к антигенам *Ascaris lumbricoides* в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Набор может быть использован как вспомогательное средство при диагностике аскаридоза.

1.2. Комплект 1 рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контроли. Возможно детальное использование набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ.

На первой стадии анализа при взаимодействии исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами *Ascaris lumbricoides* происходит связывание специфических антител и образование комплекса «антиген-антитело» на поверхности лунок. На второй стадии конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена взаимодействует с комплексами «антиген-антитело». При инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело-конъюгат». Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG - антител к антигенам *Ascaris lumbricoides* в

анализируемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) <i>Описание</i>	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными антигенами <i>Ascaris lumbricoides</i>	1 шт.
Положительный контрольный образец (K⁺) <i>Содержит IgG к антигенам Ascaris lumbricoides.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) <i>Не содержит IgG к антигенам Ascaris lumbricoides.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 2,5 мл
Конъюгат <i>Конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена.</i> <i>Содержит натрия мертиолят (0,015 %).</i>	1 фл., 13,0 мл
Раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) <i>Содержит ProClin 300 (0,02 %).</i>	1 фл., 10,0 мл
Раствор для разведения сывороток (PPC) <i>Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 12,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) <i>Содержит ProClin 300 (0,25 %).</i>	1 фл., 28,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) <i>Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,025 %).</i>	1 фл., 13,0 мл
Стоп-реагент <i>Содержит кислоту серную (4,9 %).</i>	1 фл., 12,0 мл
Планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов	1 шт.
Плётки для заклеивания планшета	2 шт.
Наконечники для дозаторов на 2-200 мкл	16 шт.
Ванночки для реагентов	2 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Титр стандартного образца предприятия СОП⁺ (СОП № 05-2- 215) должен быть не менее 1:800.

3.2. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

– 56 серопозитивных образцов сыворотки или плазмы (с Li-гепарином или с цитратом натрия или с К2ЭДТА или с К3ЭДТА) крови, содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, и составила 100% (интервал 94,79%-100% с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

– 89 серонегативных образцов сыворотки крови, не содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, и составила 100 % (интервал 96,7%-100% с доверительной вероятностью 95 %);

– 50 серонегативных образцов плазмы крови (с Li-гепарином или с цитратом натрия или с К2ЭДТА или с К3ЭДТА), не содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, и составила 100% (интервал 94,2%-100% с доверительной вероятностью 95 %).

3.3. Аналитическая специфичность:

При анализе 64 образцов клинического материала, свободных от иммуноглобулинов класса G (IgG) к антигенам *Ascaris lumbricoides*, но содержащих иммуноглобулины класса IgG к антигенам описторхисов или к антигенам трихинелл, или к антигенам эхинококка, или к антигенам токсокар, показано отсутствие ложнопозитивных результатов.

3.4. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 5,0 мг/мл; билирубин в концентрации до 0,4 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 10 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* в испытываемых наборах реагентов.

3.5. Воспроизводимость

Воспроизводимость анализа была оценена при тестировании на различных типах анализируемых образцов, содержащих IgG к антигенам *Ascaris lumbricoides*, в 8 повторях каждый. Коэффициент вариации значений оптической плотности (ОП), определенных наборами (в т.ч. разными) одной серии и разных серий не превышал 8 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

4.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 300, натрия азид, натрия мертиолят, кислоту серную, тетраметилбензидин в концентрациях, указанных в п. 3.2. «Состав набора».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) 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».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по

дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.7. Противопоказания: не применимо, изделие предназначено для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

– Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; или автоматический ИФА-анализатор открытого типа (например: анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (Lazurite) с принадлежностями);

– термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;

– промывочное устройство для планшетов;

– холодильник бытовой;

– дозаторы одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 10 до 5000 мкл;

– дозаторы многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 10 до 300 мкл;

– цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (с Li-гепарином, цитратом натрия, К2ЭДТА и К3ЭДТА) крови человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови следует хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток, или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. Допускается однократное замораживание. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.4. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием при 1000-1500 об/мин в течение 5 мин при температуре 18-25°С.

6.5. Образцы с присутствием выраженного гемолиза и коагуляции (наличие сгустков) не подходят для тестирования.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. *Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °С не менее 30 мин.

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2–8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

– Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2–30) °С в течение всего срока годности набора.

– Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

– При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, раствор ТМБ, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

– Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

– При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые накопники для дозаторов.

– При использовании автоматического устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.

– Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуется использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– В случае повторного использования посуды (ванночки) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (ванночки) дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогреть его при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 и довести до соответствующего объема дистиллированной водой, тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2–8) °С не более 30 суток или при температуре (18–26) °С не более 7 суток.

7.4. Конъюгат.

Конъюгат готов к использованию. Перемешать содержимое флакона, не допуская вспенивания. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

7.5. Раствор ТМБ.

Раствор ТМБ готов к использованию. Перемешать содержимое флакона, не допуская вспенивания. Непосредственно перед внесением и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в ванночку для реагента.

Таблица расхода компонентов

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл
	ФСБ-Т×25, мл	Дистиллиро- ванная вода, мл		
1	2,0	до 50	1,0	1,0
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

7.6. Подготовка исследуемых образцов.

Исследуемые образцы развести в 10 раз РПРС. Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельных образцов сыворотки (плазмы), тщательно перемешать.

При разведении сыворотки красный цвет РПРС должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

Хранение: не более 3 ч при температуре (18–26) °С.

7.7. Контрольные образцы, стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. В одну лунку планшета, например, А-1, внести 100 мкл положительного контрольного образца (K⁺). В любые две лунки, например, В-1 и С-1, внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K⁻).

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.6.), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемый образец в лунке разбавляется в 100 раз.

8.1.1. Определение титра исследуемых образцов.

При определении титра антител тестирование исследуемых образцов произвести в семи последовательных двукратных разведениях в интервале от 1:100 до 1:12800. В соответствующие лунки горизонтального ряда А внести по 180 мкл РРС и по 20 мкл предварительно разведенных

исследуемых образцов (п. 7.6.), тщательно перемешать. В соответствующие лунки рядов В-Н внести по 100 мкл РРС. Каждый образец титровать, перенося по 100 мкл раствора из лунок предыдущего ряда в лунки последующего от А до Н, тщательно перемешивая пипетированием. После ратитровки из каждой лунки последнего ряда Н удалить в дезинфицирующий раствор по 100 мкл раствора, оставляя в лунках по 100 мкл.

Время внесения образцов не должно превышать 20 мин.

Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 30 мин в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Инкубация планшетов в автоматических анализаторах возможна без заклеивания пленкой/закрывания крышкой.

8.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 400 мкл промывочного раствора в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.3. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см. п. 7.4.), заклеить стрипы пленкой и инкубировать в течение 30 мин в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Инкубация планшетов в автоматических анализаторах возможна без заклеивания пленкой/закрывания крышкой.

Остатки конъюгата из ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным конъюгатом*).

8.4. По окончании второй инкубации промыть лунки, как указано в п. 8.2.

8.5. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ (см. п. 7.5.) и инкубировать в защищенном от прямого солнечного света месте 25 мин при температуре $(18-26)^\circ\text{C}$.

Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ*).

8.6. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реagenta.

8.7. Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение при одной длине волны – 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значения ОП в лунках с K^- не более 0,25;
- значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,80.

9.2. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср.К^-}$).

Вычислить критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$) по формуле:

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср.К^-} + 0,25.$$

9.3. Результат анализа считается положительным, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$.

Результат анализа считается отрицательным, если $ОП_{обр.} \leq 0,85 \times ОП_{крит.}$,

где: $ОП_{обр.}$ – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом.

Результат анализа считается неопределенным, если $0,85 \times ОП_{крит.} < ОП_{обр.} < ОП_{крит.}$. Рекомендуется повторно провести иммуноферментный анализ данного образца.

9.4. За титр положительного образца принимают его наибольшее разведение, при котором $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$.

9.5. Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле: $КП = ОП_{обр.}/ОП_{крит.}$.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.2. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической

документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ» (комплект 1) обращаться:

в АО «Вектор-Бест» по адресу: 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, (383) 363-35-56.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

КРАТКАЯ СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИФА ДЛЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ» (комплект 1)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** по 100 мкл в одну лунку K^+ и в две лунки K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов
в остальные лунки.
- Инкубировать:** 30 мин, $(37 \pm 1)^\circ C$.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, $(37 \pm 1)^\circ C$.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ.
- Инкубировать:** 25 мин, $(18-26)^\circ C$, в защищенном от прямого солнечного света месте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Осторожно!
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии		Предел температуры
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до		Обратитесь к инструкции по применению
YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате: Год-Месяц-День Год-Месяц		

Нач. лаборатории
диагностики паразитарных инфекций НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор



Т.Н. Ткаченко



М.Ю. Рукавишников



Т.И. Поспелова



Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 11 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.

“08” 12 2023 г.

