

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор

ЗАО "ЭКОлаб"



Т.Ю. Гашенко

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам трихинелл» "ИФА-Трихинеллез-IgG"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам трихинелл» «ИФА-Трихинеллез-IgG» предназначен для качественного и полуколичественного выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам трихинелл в сыворотке (плазме) крови человека методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для серологической диагностики трихинеллеза.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности.

Трихинеллез – острая инфекция, вызываемая паразитированием трихинелл в поперечно-полосатых мышцах человека и животных. Заражение человека происходит в результате употребления мяса, содержащего личинки паразита. Трихинеллез протекает в две стадии. Для первой характерны признаки кишечного расстройства: умеренные боли в животе, тошнота, диарея. Они появляются в первые дни после заражения и исчезают через 10 дней (или раньше). Именно в это время в тонком кишечнике начинается развитие личинок трихинелл. Симптомы второй стадии появляются через 2-3 недели после заражения и сохраняются несколько недель. В это время личинки разносятся по всему телу, что нарушает работу сосудов и мышц. Это может сопровождаться мышечными болями, повышенной температурой, слабостью, отеками (на лице, в частности вокруг глаз), красными точками под ногтями или в глазах. После того как трихинеллы попадают в организм человека, он начинает с ними бороться. Один из способов борьбы – выработка антител (специальных белков иммуноглобулинов). Существует несколько основных типов иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA. Антитела IgG присутствуют в крови в наибольшем количестве (по сравнению с другими типами иммуноглобулинов). При трихинеллезе IgG можно обнаружить в крови через 12-60 дней после

заражения (чем сильнее заражение, тем раньше появляются антитела). Уровень IgG остается высоким долгое время (месяцы и годы).

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	очищенные инактивированные антигены трихинелл, сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном	1 планшет
	<i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в упаковке)</i>	
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость желтого цвета	1 фл. (2,5 мл)
Конъюгат	прозрачная или опалесцирующая жидкость зеленого цвета	1 фл. (12 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином ФСБ-Т(х25)	прозрачная или слегка опалесцирующая пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	1 фл. (40 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная или опалесцирующая жидкость фиолетового цвета	1 фл. (12 мл)
Раствор индикаторный (РИ)	прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость	1 фл. (12 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12,5 мл)
Наконечники для автоматических пипеток - объемом до 250 мкл		16 шт.

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т(х25), стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКО-лаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов.

4. K⁺, K⁻ не содержат HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2.

5. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор укомплектован принадлежностями:

Вспомогательные пластиковые емкости

– 4 шт.

Клейкая пленка для планшета

– 4 шт.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации набора позволяет исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 3 лунки). Предусмотрена возмож-

ность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число исследуемых образцов	1-6	7-13	14-21	22-29	30-37	38-45	46-53	54-61	62-69	70-77	78-85	86-93

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце иммуноглобулинов класса G к антигенам трихинелл происходит связывание их с антигенами трихинелл, сорбированными в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс антиген-антитело реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgG человека, меченными пероксидазой. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с субстратно-индикаторным раствором, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих иммуноглобулины класса G к антигенам трихинелл (СОП⁺-319), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащих иммуноглобулины класса G к антигенам трихинелл (СОП⁺-319) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,45% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,72% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека: 99,01% - 100%

Плазма крови человека: 98,76% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека: 99,35 % - 100%

Плазма крови человека: 99,29% - 100%

Перекрестных иммунологических реакций с образцами биологического материала, содержащими IgG к антигенам возбудителей аскаридоза, описторхоза, эхинококкоза, токсокароза, в ходе клинических испытаний набора реагентов «ИФА-Трихинеллез-IgG» не выявлено.

При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, до 120 мкмоль/л билирубина и 11 ммоль/л триглицеридов интерференция не наблюдалась.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 10 мкл.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Образцы до исследования можно хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70°С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать на лабораторном встряхивателе типа «Вортекс».

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 г), ГОСТ 31508.

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой. Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Набор реагентов, 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" относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию 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".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Анализатор иммуноферментный

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин.

Термостат на 37 °С.

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вортекс лабораторный, диапазон скоростей 250-3000 об/мин.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СанПин 3.3686-21, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(x25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

В зависимости от числа используемых стрипов отобрать необходимый объем концентрата и довести его водой очищенной до объема, указанного в табл. 1

Таблица 1

Реагент	Объем реагента, мл, настрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(x25)	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, К⁺, К⁻, РРО, конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению.

Проведение ИФА ("ручная" постановка)

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

2. Внести в три лунки контрольные образцы (в одну лунку – 100 мкл К⁺, в две лунки – по 100 мкл К⁻). В остальные лунки внести по 100 мкл РРО. Затем в лунки с РРО внести по 10 мкл исследуемых образцов, содержимое лунок перемешать пипетированием (при этом цвет РРО должен измениться).

Примечание. При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать по 1 лунке на каждый контрольный образец.

3. Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой. Инкубировать 30 мин при температуре 37°C в защищенном от света месте.

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок. Стрипы промыть 5 раз ФСБ-Т, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

5. В лунки внести по 100 мкл конъюгата. Инкубировать 30 мин при температуре 37°C в защищенном от света месте.

6. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, промыть планшет как указано в п. 4.

7. Во все лунки внести по 100 мкл раствора индикаторного, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 15 мин при температуре 37°C.

8. Во все лунки (в той же последовательности, в которой вносился субстратно-индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 5 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм ОП измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитываются только при следующих условиях:

среднее значение $ОП(K^+)$ – не менее 0,50;

среднее значение $ОП(K^-)$ – не более 0,20 (при использовании 1 стрипа - единичное значение $ОП(K^-)$ - не более 0,20).

В противном случае исследование необходимо повторить.

Рассчитать критическое значение оптической плотности, $ОП_{крит.}$, по формуле

$$ОП_{крит.} = ОП(K^-_{ср}) + 0,12,$$

где $ОП(K^-_{ср})$ – среднее значение ОП в лунках с K^- (при использовании 1 стрипа - значение ОП в лунке с K^-);

0,12 – коэффициент, полученный экспериментальным путем.

При $ОП_{иссл.обр}$ больше $1,2 \times ОП_{крит}$ образец считается положительным и содержащим иммуноглобулины класса G к антигенам трихинелл.

При $ОП_{иссл.обр}$ меньше $0,9 \times ОП_{крит}$ образец считается отрицательным, т.е. не содержащим иммуноглобулины класса G к антигенам трихинелл.

При $ОП_{иссл.обр}$ в интервале от $0,9 \times ОП_{крит}$ до $1,2 \times ОП_{крит}$ образец считается сомнительным; исследование такого образца рекомендуется повторить.

Допускается учет результатов по коэффициенту позитивности (КП)

Рассчитайте коэффициент позитивности (КП) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на критическое значение оптической плотности $ОП_{крит.}$

$$КП_{обр} = ОП_{образца} / ОП_{крит}$$

где $ОП_{образца}$ – оптическая плотность исследуемых образцов.

$ОП_{крит}$ - критическое значение оптической плотности.

Исследуемые образцы учитывать:

как положительные при $КП_{обр}$ больше 1,2;

как отрицательные при КПобр меньше 0,9.

Исследуемые образцы учитывать как сомнительные при КПобр в диапазоне от 0,9 до 1,2, т.е. при $1,2 \geq \text{КПобр} \geq 0,9$.

Образцы, оцененные как сомнительные, должны быть исследованы повторно. При повторном получении сомнительных результатов рекомендуется дополнительное обследование пациента.

Интерпретацию результатов анализа проводит лечащий врач с учетом клинических признаков и результатов прямых методов анализа.

Возможность перекреста иммунологических реакций при заболеваниях аскаридозом, описторхозом, токсокарозом и эхинококкозом. Это может быть связано как с совместной инвазией, так и с взаимодействием антител с гетерологичным антигеном за счет наличия общих антигенных компонентов.

Титрование положительного образца

Тест-система позволяет выполнить определение титра антител в выявленном положительном образце. Для этого, на отдельном стрипе необходимо провести ИФА с соответствующим образцом в последовательных двукратных разведениях его раствором РРО от 1:10 до 1:1280.

Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 180 мкл раствора РРО, в остальные лунки стрипа – по 100 мкл раствора РРО. Затем в верхнюю лунку стрипа внести 20 мкл выявленного положительного образца, тщательно перемешать пипетированием и перенести 100 мкл полученного разведения (1:10) во вторую лунку, тщательно перемешать пипетированием, перенести 100 мкл полученного разведения (1:20) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 100 мкл разведения (1:1280) и слить его в дезинфицирующий раствор.

Далее провести ИФА как указано в п. **Проведение ИФА ("ручная" постановка).**

Диагностическим титром анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови следует считать наибольшее разведение анализируемого образца, при котором его оптическая плотность больше либо равна величине критического значения оптической плотности ($\text{ОП}_{\text{иссл.обр.}} \geq \text{ОП}_{\text{крит.}}$).

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается.

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам трихинелл» "ИФА-Трихинеллез-IgG" соответствует ТУ 21.20.23-319-70423725-2022, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

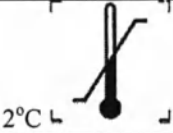
По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1А. ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643) 3-23-11, 3-30-93, 3-30-85, 8-800-333-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным, для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия, потребитель должен предоставить:

- набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
- все спорные исследуемые образцы пациентов;
- протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
- протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

Символ	Значение символа
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Код партии
	Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения 96- тестов

	Использовать до
	Предел температуры
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Обратитесь к инструкции по применению
	Беречь от влаги
	Нестерильно
	Осторожно!
	Биологический риск
	Хрупкое. Осторожно

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г. Марданлы

07 2022 г.

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

2022

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА

("ИФА-Трихинеллэз-IgG")

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести	в три лунки контрольные образцы (в одну лунку – 100 мкл К ⁺ , в две лунки – по 100 мкл К ⁻ ; при использовании 1 стрипа: в одну лунку – 100 мкл К ⁺ и в одну лунку – по 100 мкл К ⁻); в остальные лунки внести по 100 мкл РРО. Затем в лунки с РРО внести по 10 мкл исследуемых образцов
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл конъюгата в каждую лунку
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	15 мин, 37 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ
«27» 07 2022 г.
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
«28» 07 2022 г.
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.