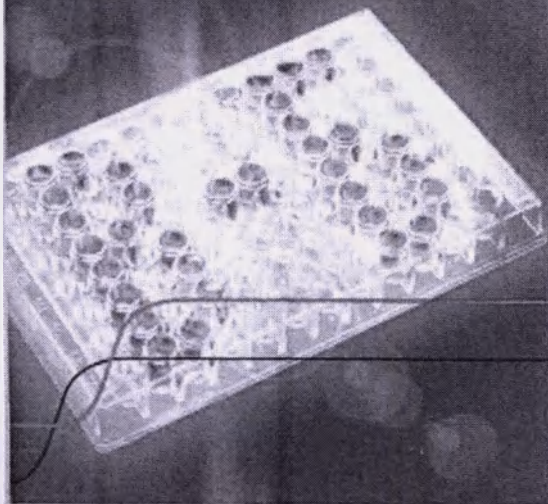


БЕКТОР

БЕСТ



Описаторх-IgG – ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-2952

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса G к антигенам
описторхисов в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Описторх-IgG – ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-2952

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Описторх-IgG-ИФА-БЕСТ (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Выявление иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов может быть использовано при диагностике описторхоза в комплексе с другими методами, при изучении патогенеза, иммуногенеза и эпидемиологии заболеваний описторхозом в клинических и научно-исследовательских лабораториях.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализов в дублях 45 неизвестных, 3 контрольных образцов или 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ, в ходе которого при взаимодействии исследуемых образцов сывороток (плазмы) крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами описторхисов происходит связывание специфических антител и образование комплексов.

Инструкция утверждена 06.12.2013 Приказом Росздравнадзора № 7033-Пр/13.

D-2952

3

са «антиген-антитело» на поверхности лунок. После добавления в лунки планшета конъюгата моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена происходит включение ферментной метки в иммунный комплекс.

Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к антигенам описторхисов в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами описторхисов, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K⁺) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины класса G к антигенам описторхисов, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K⁻) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины класса G к антигенам описторхисов, готовый для использования – 1 флакон (2,5 мл);

- конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – 1 флакон (10 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (12 мл);
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночкой для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 5-200 мкл – 16 шт.

По согласованию с потребителем дополнительно поставляется:

- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Возможен перекрест иммунологических реакций при заболеваниях токсокарозом, трихинеллезом и эхинококкозом, что может быть связано как с совместной инвазией, так и со взаимодействием антител с гетерологичным антигеном за счет иммунологических перекрестов между антигенами.

3.2. Специфическая активность:

чувствительность выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов – соответствие результатов качественного выявления набором иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-280), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%; средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с положительными сыворотками №1-№9 больше либо равны величине диагностического значения оптической плотности ($ОП_{№1-№9} \geq ОП_{д}$);

специфичность выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов – соответствие результатов качественного выявления набором иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов требованиям стандартной панели предприятия СПП (рег. № 05-2-267), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%; средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с отрицательными сыворотками №1 – №8 меньше либо равны величине диагностического значения оптической плотности, умноженного на 0,85 ($ОП_{№1-№8} \leq 0,85 \times ОП_{д}$).

3.3. Титр стандартного образца предприятия СОП+ (рег. № 05-2-21) должен быть не менее 1:800.

3.4. Диагностическая чувствительность: клинические исследования, проведенные в

двух независимых учреждениях на 39 положительных образцах, взятых у больных с подтвержденным описторхозом, показали 97% чувствительность (интервал 88%–100%, с достоверительной вероятностью 90%).

3.5. Диагностическая специфичность: клинические исследования, проведенные в двух независимых учреждениях на 74 отрицательных образцах, взятых у доноров, отобранных случайным образом, и больных с иной нозологией (токсокароз, аллергозы, поражение гепатобилиарной системы непаразитарной этиологии, эхинококкоз цистный, онкологические заболевания печени) показали 92% специфичность (интервал 85%–96%, с достоверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики рас-

пространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаний МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998 г).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционного, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших 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,

спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ C$;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- шпетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 до 300 мкл;

- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 10–15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови допускается хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут при отсутствии микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес.

Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все

компоненты набора и образцы сывороток (плазмы) крови при температуре от 18 до 25°C в течение времени не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимые для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 ч после установки. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от числа используемых стрипов.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

7.4. Подготовка положительного (K⁺) и отрицательного (K⁻) контрольных образцов

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Положительный и отрицательный контрольные образцы после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.

7.5. Предварительное разведение исследуемых образцов

В лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток (РПРС) и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать. При разведении сыворотки красный цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат.

Предварительно разведенные исследуемые образцы можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.

7.6. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в стеклянный флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор конъюгата утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом!).

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

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

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ отобрать в стеклянный флакон или в пластиковую ванночку для реагента поместить в защищенное от света место.

Оставшийся после проведения ИФА раствор тетраметилбензидина утилизировать

(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ!).

Раствор ТМБ после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 5°C в течение всего срока годности.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внесение образцов.

В лунку А-1 внести 100 мкл положительно-го контрольного образца (K^+). В лунки В-1 и С-1 внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-).

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток (PPC) и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови (см п. 7.5), перемешать пипетированием.

Для повышения достоверности результатов исследуемые образцы рекомендуется анализировать в дублях, используя для каждого образца по две лунки.

Раствор для разведения сывороток перед употреблением встряхнуть!

7.10. Определение титра исследуемых образцов

Для определения титра в выявленных положительных образцах в лунки горизонтально-

го ряда А внести по 180 мкл PPC и по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сывороток (плазмы) крови (см п. 7.5). В лунки рядов В-Н внести по 100 мкл PPC. Каждый образец титровать, перенося по 100 мкл раствора из лунок предыдущего ряда в лунки последующего от А до Н, тщательно перемешивая пипетированием. После раститровки из каждой лунки последнего ряда Н удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором по 100 мкл раствора, оставляя в лунках по 100 мкл. Таким образом, в вертикальных рядах получаются последовательные 2-кратные разведения исследуемых образцов в интервале от 1:100 до 1:12800.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин.

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

7.12. По окончании инкубации снять липкую пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 400 мкл промывочного раствора (см п. 7.3). Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из

лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

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

7.15. По окончании инкубации промыть планшет как описано в п. 7.12.

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Планшет инкубировать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C .

Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.17. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается из-

мерение оптической плотности при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху).

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать средние арифметические значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом, для каждой пары лунок, содержащих образцы исследуемых сывороток (плазмы) и последовательные разведения исследуемых сывороток (плазмы) крови.

9.2. На основании полученных данных вычислить диагностическое значение оптической плотности ($\text{ОП}_\text{д}$) по формуле:

$$\text{ОП}_\text{д} = \text{ОП}_\text{ср} (\text{K-}) + 0,14,$$

где: $\text{ОП}_\text{ср} (\text{K-})$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом, ед. опт. плотн.

9.3. Оценка результатов:

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом должно быть не более 0,25 ед. опт. плотн.;

– значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 0,80 ед. опт. плотн.;

9.4. Только при соблюдении положений п. 9.3. можно учитывать результаты, получен-

ные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

9.5. Результат анализа считают **положительным**, если $ОП_{обр} \geq ОП_d$.

Результаты анализа считают **отрицательным**, если $ОП_{обр} \leq 0,85 \times ОП_d$.

Результаты анализа считают **сомнительными**, если $ОП_d > ОП_{обр} > 0,85 \times ОП_d$, где: $ОП_{обр}$ – оптическая плотность анализируемого образца в дунке, ед. опт. плотн.

При получении сомнительного результата рекомендуется повторно, через 2–4 недели, проанализировать вновь взятый образец сыворотки (плазмы) крови человека. Если оптическая плотность второго анализа снова будет в интервале от $0,85 \times ОП_d$ до $ОП_d$ – результат следует считать отрицательным.

9.6. Титр анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови – наибольшее разведение анализируемого образца, при котором его оптическая плотность больше либо равна величине диагностического значения оптической плотности ($ОП_{обр} \geq ОП_d$).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8°C. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;

- положительный и отрицательный контрольные образцы, конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с гвином, раствор для предварительного разведения сывороток, раствор для разведения сывороток и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;

- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

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

10.6. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Тх25, стоп-реагент, раствор для предварительного разведения сывороток), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

По вопросам, касающимся качества набора «Описторх- IgG-ИФА-БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ» по адресу: 630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121, тел. (383) 363-20-60, 227-75-43, тел./факс (383), 336-13-46, 363-35-55. E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

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

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации иммуноглобулинов класса G к антигенам описторхисов в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Обеспечение безопасности персонала Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7. настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов

реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

2. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутрен-

нюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

- Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

- Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

- Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

- Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте планшты и емкости 70% этиловым спиртом.

- Для предотвращения засорения пгп промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

3. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

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.

4. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «Описторх-IgG – ИФА – БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести: по 100 мкл K^+ и K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.

Инкубировать: 30 мин, 37°C.

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 30 мин, 37°C.

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 25 мин, 18–25°C, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

5. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	yyyy-mm-dd yyyy-mm	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста
по работе с набором
можно получить по тел.: (383) 363-35-56.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е;
ВИЧ-инфекция; ИППП; TORCH-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; онкологические и кардиомаркеры;
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

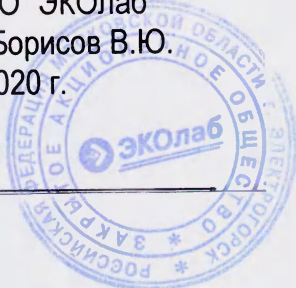
Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

16 лист(ов) 176) Листов

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"

Борисов В.Ю.

"25" 12 2020 г.



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор

ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю.Борисов

"21" декабря 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам рода *Opisthorchis*» "ИФА-Описторхоз- IgG"

НАЗНАЧЕНИЕ

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

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	очищенный инактивированный антиген описторхисов сорбированный 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(x25)]	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)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.

- Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.*
2. ФСБ-Т(х25), РИ, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

Набор дополнительно укомплектован принадлежностями:

вспомогательными пластиковыми емкостями размером 100х50х19 мм (4 шт.),

клеякой пленкой для планшетов размером 85х135 мм (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 возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число иссл. 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 рода *Opisthorchis* происходит связывание их с антигенами описторхисов, сорбированными в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс антиген-антитело реагирует с введенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgG человека, мечеными 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 НАБОРА

Аналитическая чувствительность набора определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, содержащих иммуноглобулины класса G к антигенам рода *Opisthorchis* (СОП⁺-174), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Аналитическая специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих иммуноглобулины класса G к антигенам рода *Opisthorchis* (СОП⁻-174) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,69 - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови: 99,17% - 100%;

Плазма крови: 99,52% - 100%;

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,76 - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови: 99,27% - 100%;

Плазма крови: 99,63% - 100%;

Воспроизводимость результатов составила 100%.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венопункции (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований»).

Нативная сыворотка (плазма) крови человека объемом не менее 10 мкл.

Образцы сыворотки (плазмы) крови до исследования можно хранить не более 7 сут. при температуре от 2 до 8 °С и 3 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

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.

Перекрестных реакций, обусловленных наличием общих антигенных детерминант в гельминтах (с аскаридозом, трихинеллезом, эхинококкозом, лямблиозом и токсокарозом) при постановке испытываемого набора не выявлено.

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ №4н от 06.06.12.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Мин здравоохранения СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003).

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом. К+, К- содержат натрия азид в конечной концентрации 0,01 %. Данная концентрация является безопасной. Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными. Класс А – эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам (ТБО).

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" 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.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин, термостат на 37 °С, холодильник бытовой, фильтровальная бумага, ИФА-анализатор.

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 СП 1.3.2322-08, 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(х25) 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(х25)	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°С 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°С 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°С.

8. Во все лунки (в той же последовательности, с 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

$$ОП_{крит.} = ОП(K^-_{ср}) + 0,35,$$

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

0,35 – коэффициент, полученный экспериментальным путем.

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

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

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.

Интерпретацию результатов анализа проводит лечащий врач с учетом клинических признаков и результатов прямых методов анализа (дуоденальное зондирование, копроовоскопия).

Следует учитывать возможность перекреста иммунологических реакций при заболеваниях аскаридозом, лямблиозом, трихинеллезом, 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 1:5 до 1:640.

Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 160 мкл раствора РРО, в остальные лунки стрипа – по 100 мкл раствора РРО. Затем в верхнюю лунку стрипа внести 40 мкл выявленного положительного образца, тщательно перемешать пипетированием и перенести 100 мкл полученного разведения (1:5) во вторую лунку, тщательно перемешать пипетированием, перенести 100 мкл полученного разведения (1:10) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 100 мкл разведения (1:640) 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 ($ОП_{иссл.обр.} \geq ОП_{крит.}$).

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

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

Транспортирование наборов – 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 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

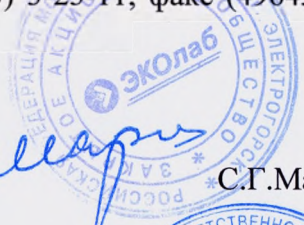
Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам рода *Opisthorchis* "ИФА-Описторхоз-IgG", соответствует ТУ 9398-174-70423725-2015 с изм №1, №2, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "ИФА-Описторхоз-IgG", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1а. ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по науке


С.Г.Марданлы


И.К.Варнавичус




Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«27» 12 2020 г.

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА ("ИФА-Описторхоз-IgG")

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести	в три лунки контрольные образцы (в одну лунку – 100 мкл K ⁺ , в две лунки – по 100 мкл K ⁻ ; при использовании 1 стрипа: в одну лунку – 100 мкл K ⁺ и в одну лунку – по 100 мкл K ⁻); 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 7 ЛИСТОВ

21 12 2020 год

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

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

7 (семь) лист 06
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
21 12 2020 г.