

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор

ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю.Борисов

"05" 06 2019 г.



ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная для выявления
иммуноглобулинов класса G к возбудителю эхинококкоза»
"ИФА-Эхинококкоз-IgG"

Регистрационное удостоверение №..... от г.

НАЗНАЧЕНИЕ

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

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Показания: in vitro диагностика инвазии эхинококком.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализата, сведения о его научной обоснованности

Эхинококкоз – гельминтное заболевание из группы цестодозов, вызываемое паразитированием в организме человека эхинококка.

Окончательными хозяевами половозрелых гельминтов выступают животные (собаки, лисы, волки, львы, рыси и др.), в кишечнике которых паразитируют цестоды. Человек, домашние и дикие травоядные животные (рогатый скот, свиньи, лошади, олени, лоси и др.) являются промежуточными хозяевами личиночных стадий и одновременно биологическим тупиком, поскольку не выделяют яйца эхинококка в окружающую среду и не могут служить источником инвазии.

Заражение людей эхинококкозом происходит алиментарным (при употреблении загрязненных фекалиями овощей и фруктов, воды) или контактным путем (при разделке туш или контакте с животными, инвазированными эхинококком). Высокий риск заболеваемости эхинококкозом имеют лица, занятые животноводством и уходом за животными (животноводы, охотники, работники скотобоен и др.). Сдача биологического материала рекомендована не реже 1 раза в 12 месяцев с целью выявления инфекции на ранних этапах развития болезни.

Правильной диагностике эхинококкоза способствует подробно собранный эпидемиологический анамнез, указывающий на тесный контакт человека с животными, эндемичность заражения. При подозрении на эхинококкоз любой локализации назначаются серологические исследования крови (ИФА, РНИФ, РНГА), позволяющие обнаружить специфические антитела к эхинококку. Специфичность и чувствительность тестов достигает 80-98%. Примерно в 2/3 случаев оказывается информативной кожно-аллергическая проба - реакция Казони.

Клинический анализ крови не является достоверным методом диагностики эхинококкоза. Раннюю стадию можно легко пропустить, а запущенную спутать с другим острым инфекцион-



олеванием. Достоверным и основным методом диагностики является исследование крови дом ИФА, задача которого найти антитела к паразитам.

Определение антител класса G к возбудителю эхинококкоза – это основной серологический метод, позволяющий диагностировать инвазию эхинококками.

Выявление антител класса G к антигенам эхинококка может быть использовано для:

- диагностики эхинококкоза у лиц с характерным комплексом симптомов (*боли в месте локализации кисты, слабость*, крапивница, кожный зуд, а также специфические симптомы, обусловленные паразитированием кистозной формы эхинококка в том или ином органе);
- дифференциальной диагностики эхинококкоза от других гельминтозов и заболеваний, сопровождающихся аналогичными симптомами;
- оценки эффективности лечения эхинококкоза;
- эпидемиологических исследований.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	Нативный антиген эхинококка, сорбированный на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном	1 планшет (12 стрипов)
<i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)</i>		
Контрольный положительный образец (K^+)	Сыворотка крови человека, содержащая иммуноглобулины класса G к возбудителю эхинококкоза; инактивированная; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K^-)	Сыворотка крови человека, не содержащая иммуноглобулины класса G возбудителю эхинококкоза; инактивированная; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость желтого цвета	1 фл. (2,5 мл)
Конъюгат	антитела моноклональные мышиные против иммуноглобулинов человека класса G, конъюгированные с пероксидазой хрена; 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 бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °C в течение 30 мин	1 фл. (40 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная или слегка 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(x25), РИ, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

3. Допускается использование неспецифических реагентов из разных серий.

4. K^+ и K^- не содержат HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, 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 (ПВХ) 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 проводить исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 3 лунки). Предусмотрена возможность проведения раздельных 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	6-13	7-21	22-29	30-37	38-45	46-53	54-61	62-69	70-77	78-85	86-93

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце иммуноглобулинов класса G к эхинококку происходит связывание их с антигеном эхинококка, сорбированным в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс «антиген-антитело» реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами против IgG человека, меченными пероксидазой хрена. 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 сывороток предприятия, содержащих иммуноглобулины класса G к возбудителю эхинококкоза (СОП⁺_{Эхинококкоз-G-269}), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Аналитическая специфичность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, не содержащих антитела к возбудителю эхинококкоза (СОП_{Эхинококкоз-269}), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,33% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,66% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови: 98,02% - 100%;

Плазма крови: 99,01% - 100%;

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови: 99,23% - 100%;

Плазма крови: 99,38% - 100%;

Воспроизводимость результатов составила 100

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при темпе-

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.

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.

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

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

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

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. Мин- здравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

РРО содержит 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".

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и способы управления ими представлены отдельным документом (см. Анализ рисков).

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

- 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;
- Мерный цилиндр (стакан) вместимостью 1000 мл для приготовления отмывающего раствора.
- 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;
- Фильтровальная бумага;
- 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 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

- ИФА-анализатор.

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 30 сут.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, K^+ , K^- , 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 его 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 K^+ , в две лунки – по 100 мкл K^-); 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.

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

5. 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.

6. Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата, выдержать 30 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 5 раз промыть планшет как указано в п. 5.

8. 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.

9. 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 1,0;

среднее значение $ОП(K^-)$ – не более 0,15 (при использовании 1 стрипа - единичное значение $ОП(K^-)$ - не более 0,15).

В противном случае исследование необходимо повторить.

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

$$ОП_{крит.} = ОПК_{cp} + 0,2$$

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

0,2 – коэффициент, полученный экспериментальным путем.

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

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

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 перекрестных серологических реакций при заболеваниях описторхозом, трихинеллезом, аскаридозом и токсокарозом. Это может быть связано как с совместной инвазией, так и с взаимодействием антител с гетерологичными антигенами 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 ($ОП_{иссл.обр.} \geq ОП_{крит.}$).

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.

ителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный 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. Замораживание не допускается.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производство имеет сертифицированную на соответствие требованиям международных стандартов ISO 9001:2015, ISO 13485:2003 систему менеджмента качества.

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к возбудителю эхинококкоза» "ИФА-Эхинококкоз-IgG", соответствует Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «ИФА-Эхинококкоз-IgG», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК, ekolab-sekretar@mail.ru.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по науке

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«__» _____ 2019 г.



С.Г.Марданлы

П.К. Варнавичус

**КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
("ИФА-Эхинококкоз-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 8 ЛИСТОВ

«19» 11 2019 год

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



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

8 лист
Ген. Директор ЗАО «ЭКОлаб»
Борисов В.Ю.
«19» 11 2019 г.





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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Эхинококк-IgG – ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-3356

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Выявление иммуноглобулинов класса G к антигенам эхинококка однокамерного может быть использовано для серологической диагностики эхинококкоза, контроля эффективности лечения и диагностики рецидива, а также для научных исследований при эхинококкозе.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализов в дублях 45 неизвестных, 3 контрольных образцов, всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения иммуноглобулинов класса G к антигенам эхинококка однокамерного представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ, в ходе которого при взаимодействии исследуемых образцов сывороток (плазмы) крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами эхинококка однокамерного происходит связывание специфических антител и образование комплекса «антиген-антитело» на поверхности лунок. После удаления несвя-

завшихся компонентов сыворотки (плазмы) и 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. После добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к антигенам эхинококка однокамерного в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами эхинококка однокамерного – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+ ; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^- ; прозрачная жидкость желтого цвета) – 1 фл., 2,5 мл;
- конъюгат, концентрат (прозрачная жидкость синего цвета) – 1 фл., 1,5 мл;

- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; прозрачная бесцветная жидкость, допускается наличие небольшого осадка солей, исчезающего при нагревании) – 1 фл., 28,0 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС; прозрачная жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10,0 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС; прозрачная жидкость зеленого цвета) – 1 фл., 28,0 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР; прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 13,0 мл;
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ; прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 1,0 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12,0 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 16 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

3. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

D-3356

5

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента, являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 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 прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

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

4.8. Точность и воспроизводимость результатов анализа зависят от строгого выполнения следующих правил:

- не используйте реагенты с истекшим сроком годности;
- при постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, РПРС, СБР, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест»;
- *запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;*
- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, кото-

рые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

- используйте стеклянную посуду, тщательно вымытую и ополоснутую дистиллированной водой, или (предпочтительно) одноразовую посуду;

- не допускайте высыхания стрипов в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов;

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

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

- необходимо следить за состоянием промывочного устройства – регулярно обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом;

- 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 приготовления конъюгата и рабочего раствора ТМБ; **обращаем Ваше особое внимание** на то, что малейшее, даже не видимое глазом загрязнение пипеток раствором конъю-

гата может привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ, поэтому необходимо протирать рабочую поверхность стола и конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом перед внесением ТМБ в СБР;

- проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;
- не изменяйте протокол исследования;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

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

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл (погрешность не более 5%);
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей до 300 мкл (погрешность не более 5%);
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Образцы крови у обследуемых лиц в количестве не менее 0,5 мл отбирают из вены или из пальца натошак.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови допускается хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут при отсутствии микробной контаминации. Замороженные образцы хранить при температуре не выше минус 20°C не более 6 мес. В этом случае образцы можно замораживать/оттаивать только один раз, т.к. повторное замораживание/оттаивание приводит 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.

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

6.5. Следует обратить внимание на точное дозирование и тщательное перемешивание сывороток с раствором, используемым для их разведения. От соблюдения этих требований зависит точность и воспроизводимость результатов анализа.

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора, в том числе запечатанный пакет с планшетом, и образцы сывороток (плазмы) при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

7.2. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

7.2.1. Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми наконечниками для пипеток.

7.2.2. После отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть закручивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение всего срока годности.

7.3. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

Хранение: при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности набора.

7.4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО ФОСФАТНО-СОЛЕВОГО БУФЕРНОГО РАСТВОРА С ТВИНОМ

Рабочий раствор ФСБ-Т приготовить разведением исходного концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином в 25 раз.

Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов набора реагентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре (30–40)°С до полного растворения осадка.

Хранение: не более 5 суток при 2–8°С.

7.5. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

7.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЬЮГАТА

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу) отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество рабочего раствора ФСБ-Т и добавить соответствующее количество концентрата конъюгата.

Хранение: не более 3 часов при 18–25°С.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Количество одновременно используемых стрипов	Рабочий раствор ФСБ-Т		Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор ТМБ	
	ФСБ-Т, концентрат, мл	Вода дистиллированная, мл	Конъюгат, концентрат, мл	Рабочий раствор ФСБ-Т, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл
1	2,0	до 50	0,1	1,0	0,05	1,0
2	4,0	до 100	0,2	2,0	0,10	2,0
3	6,0	до 150	0,3	3,0	0,15	3,0
4	8,0	до 200	0,4	4,0	0,20	4,0
5	10,0	до 250	0,5	5,0	0,25	5,0
6	12,0	до 300	0,6	6,0	0,30	6,0
7	14,0	до 350	0,7	7,0	0,35	7,0
8	16,0	до 400	0,8	8,0	0,40	8,0
9	18,0	до 450	0,9	9,0	0,45	9,0
10	20,0	до 500	1,0	10,0	0,50	10,0
11	22,0	до 550	1,1	11,0	0,55	11,0
12	24,0	до 600	1,2	12,0	0,60	12,0

7.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

Внимание! Рекомендуется выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином. Посуду и наконечники для пипетки, контактирующие с раствором ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду и наконечники ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество СБР, добавить соответствующее количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

Допустимо голубое окрашивание рабочего раствора ТМБ, которое не оказывает влияния на результаты анализа.

Хранение: не более 3 часов при 18–25°C в темноте.

7.8. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ СЫВОРОТКИ (ПЛАЗМЫ) КРОВИ

Исследуемые образцы сывороток (плазмы) крови предварительно развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток,

используя стрипы дополнительного планшета. Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл исходной исследуемой сыворотки (плазмы), тщательно перемешать. При этом цвет раствора в лунках должен измениться с малинового на желтый. Если изменения цвета не произошло, результат анализа данной сыворотки может быть неправильным.

Хранение: не более 3 часов при температуре 18–25°C.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

8.1. Внести контрольные образцы:

- 1 лунка – 100 мкл K^+ ;
- 2 лунки – по 100 мкл K^- .

Например, в лунку А-1 внести 100 мкл K^+ , в В-1 и С-1 по 100 мкл K^- .

В остальные лунки внести в дублях по 90 мкл РПРС и по 10 мкл образцов сывороток (плазмы) крови в предварительном разведении (п. 7.8), тщательно перемешать, таким образом исследуемая сыворотка в лунке разбавляется в 100 раз.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 5–7 мин.

Внесение исследуемых сывороток для определения титра произвести в семи последовательных двукратных разведениях в интервале от 1:100 до 1:12800. В лунки горизонтального ряда А внести по 200 мкл разведения 1:100 исследуемых образцов,

приготовленных, как описано в п. 7.8. В 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 раститровки из каждой лунки последнего ряда Н удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором по 100 мкл раствора, оставляя в лунках по 100 мкл.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°C.

8.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть лунки планшета 5 раз рабочим раствором ФСБ-Т (п. 7.4.) с помощью промывочного устройства. При этом в каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе одного промывания. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.3. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.6.).

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре 37°C.

Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.4. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок и промыть стрипы 5 раз так, как указано в п. 8.2.

8.5. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина (п. 7.7.) и инкубировать в темноте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C.

Для внесения рабочего раствора тетраметилбензидина использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.6. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и рабочий раствор тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реактанта (при этом цвет раствора в лунках меняется на желтый).

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допускается измерение оптической плотности на одной длине волны – 450 нм.

Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

10. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых сывороток.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочий раствор ФСБ-Т, 400 мкл, 5 раз.
-
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочий раствор ФСБ-Т, 400 мкл, 5 раз.
-
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
-
- Внести:** по 100 мкл стоп-реактанта.
-
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–650 нм.

11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

11.1. Рассчитать средние арифметические значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср} K^-$); для каждой пары лунок, содержащих образцы исследуемых сывороток (плазмы) и последовательные разведения исследуемых сывороток (плазмы) крови.

11.2. Значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 0,5 ед. опт. плотн.

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

11.3. Оценку результатов проводить при условии полного выполнения положений п. 11.2.

11.4. На основании полученных данных вычислить диагностическое значение оптической плотности ($ОП_d$) по формуле:

$$ОП_d = ОП_{ср} K^- + 0,14$$

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

Результат анализа считают **отрицательным**, если $ОП_{обр} \leq 0,85 \times ОП_d$, где $ОП_{обр}$ – среднее значение оптической плотности анализируемого образца в лунке, ед. опт. плотн.

Если оптическая плотность исследуемой сыворотки находится в диапазоне от $0,85 \times ОП_d$ до $ОП_d$, то результат следует считать **сомни-**

тельным и через 2–4 недели необходим повторный анализ вновь взятого образца сыворотки крови данного человека.

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

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

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

12.1. Набор «Эхинококк-IgG – ИФА – БЕСТ» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (9 мес.). Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

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

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

По вопросам, касающимся качества набора,
следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46, 336-60-60,
тел./факс (383), 336-60-30, 332-67-52

03.12.09.

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путем
ВИЧ-инфекция
TORCH-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

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

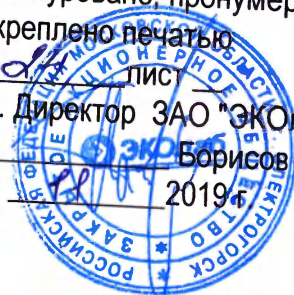
Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"

Борисов В.Ю.

2019 г.



ЗАО «ЭКОлаб»		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» № 269-2019		
Стадия ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)»		
Дата введения: 09.01.2019	СОП-ПО-11-316	Стр. 1 из 7
Версия №1 Введено впервые	Действительно до:	Копия № 2

1. Назначение.

В соответствии с СОП-АД-01-31 настоящая инструкция определяет порядок выполнения стадии ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца, контрольного отрицательного образца» для ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG».

Продукты, получаемые по завершении стадии:

- К⁺ – готовый к применению контрольный положительный образец – сыворотка крови человека, инактивированная прогреванием с хлороформом при 56°C в течение 30 мин, содержащая антитела класса G к возбудителю эхинококкоза, расфасованная в пластиковые флаконы с навинчиваемыми крышками и маркированная в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-269-70423725-2019.

- К⁻ – готовый к применению контрольный отрицательный образец – сыворотка крови человека, инактивированная прогреванием с хлороформом при 56°C в течение 30 мин, не содержащая антитела класса G к возбудителю эхинококкоза, расфасованная в пластиковые флаконы с навинчиваемыми крышками и маркированная в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-269-70423725-2019.

2. Персонал.

Требования настоящей инструкции распространяются на весь персонал, занятый выполнением указанной работы.

3. Технологическая схема стадии.

ТП-5. Приготовление контрольного положительного образца, контрольного отрицательного образца	
ТП-5-1. Приготовление вспомогательных растворов	
ТП-5-2. Обработка сырья	
ТП-5-3. Приготовление К ⁻	
ТП-5-4. Приготовление К ⁺	
ТП-5-5. Контроль в ИФА	
ТП-5-6. Розлив К ⁻ и К ⁺ , укупорка, маркировка	
ТП-5-7. Хранение до комплектации набора	
	ВР-5. Обработка отходов

Примечание. "X" в номерах стадии и операций использовано в связи с общим характером стадии для производства группы продуктов

Составил (изменил)	Согласовали:	Утвердил:
Должн. Ст. микробиолог НПО «ИППП»	Должн.: Начальник НПО «ИППП»	Должн.: Зам. ген. директора по производству
ФИО: Яковлева А.Н.	ФИО: Авдонина А.С.	ФИО: Гашенко Т.Ю.
Подпись: <i>Яковлева</i>	Подпись: <i>Авдонина</i>	Подпись: <i>Гашенко</i>
Дата: 09.01.19	Дата: 09.01.19	Дата: 09.01.19
	Должн.: Директор производства ДП	
	ФИО: Осинская А.Д.	
	Подпись: <i>Осинская</i>	
	Дата: 09.01.19	
	Долж. Начальник ООК	
	ФИО: Овинникова С.С.	
	Подпись: <i>Овинникова</i>	
	Дата: 09.01.19	

ЗАО «ЭКОлаб»		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» № 269-2019		
Стадия ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)»		
Дата введения: 09.01.2019г.	СОП-ПО-11-316	Стр. 2 из 7
Версия №1 Введено впервые	Действительно до:	Копия № 2

4. Спецификация оборудования

№ позиции в АС	Наименование	Количество	Марка, фирма-изготовитель (для импортного – страна)	Техническая характеристика
В-4	Весы лабораторные настольные	1	Любой марки, обеспечивающей заданную точность взвешивания	Заданная точность взвешивания $\pm 0,001$ г
ПС-4-1	Бутыль для приготовления растворов	*	ГОСТ 23932-90	Вместимость - 1000 мл Стекло светлое
ПС-1	Цилиндр мерный 1-го класса точности	*	ГОСТ 1170-74	* Стекло светлое
Ф-1	Установка для получения воды очищенной.	1	УВОИ «М-Ф» 2540-F-2; «Медиана Фильтр»	Производительность - 100 л/ч Максимальная вместимость - 810 л.
М-12	Магнитная мешалка с подогревом	1	ARE; «Velp», Италия.	Скорость 50 – 1200 об/мин. Макс. объем жидкости - 15 л Температура нагрева - до 370°C
Д-7	Дозаторы одноканальные механические	*	«Ленпипет»; «Thermo Fisher Scientific», Финляндия	Вместимость - от 0,5 мкл до 10 мл
ПС-2	Колба плоскодонная	*	ГОСТ 23932-90	* Стекло светлое
ПС-8	Флакон термостойкий	*	ГОСТ 23932-90	Объем: 100 мл
Т-3	Термостатирующая прецизионная баня	1	LB-224; «LOIP»	Диапазон задаваемых температур - от 0 до 100°C Предел допускаемой погрешности - $\pm 0,2^\circ\text{C}$ Нестабильность поддержания заданной температуры - $\pm 0,1^\circ\text{C}$
Т-1	Морозильник-ларь медицинский	1	280М; ОАО «Красноярский завод холодильников Бирюса»	Температурный диапазон: от -30 до -40°C Внутренний объем камеры: 280 л.
Ф-6	Центрифуга с охлаждением	1	4K15; «SIGMA labor-zentrifugen», Германия	Максимальная вместимость - 4x500 мл Скорость вращения - от 100 до 15000 об/мин Диапазон температуры - от минус 20 до 40°C

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Яковлева А.Н.	Авдонина А.С.	Гашенко Т.Ю.
	Осинская А.Д.	
	Овинникова С.С.	

ЗАО «ЭКОлаб»		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» № 269-2019		
Стадия ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)»		
Дата введения: 09.01.2019г.	СОП-ПО-11-316	Стр. 3 из 7
Версия №1 Введено впервые	Действительно до:	Копия №2

А-1	Оборудование для ИФА	1	См. СОП-ПО-11-188	См. СОП-ПО-11-188
Э-1	Автоматический аппликатор этикеток	1	ALS 204; «Avery Dennison Corporation» США	Максимальная скорость этикетирования - 40 м/мин Максимальная ширина материала - 110 мм
КХ-1	Контейнер для хранения флаконов (пакетов) с реагентами	*	-	Вместимость - 60-80 л

Примечание. "*" в графе "Количество" означает число единиц оборудования, определяемое объемом работы.

5. Сырье и материалы.

№ п/п	Наименование	Спецификация*	Квалификация** (при необходимости)
Основное сырье и материалы (позиции, входящие в состав продукта стадии/операции)			
1.	Вода очищенная 2-ой ступени	ФС 2.2.0020.15 СОП-ИО-03-05	
2.	Плазма или сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к возбудителю эхинококкоза	СПК, КВД	Требования к сырью см. ТУ 21.20.23-269-70423725-2019
3.	Плазма или сыворотка крови человека, не содержащая антитела класса G к возбудителю эхинококкоза	СПК, КВД	Требования к сырью см. ТУ 21.20.23-269-70423725-2019
4.	5-бромо-5-нитро-1,3-диоксан (бронидокс)	«Sigma», Китай, кат. № B8791	
5.	Паранитрофенол	«Fluka», Япония, кат. № 73560	осч
6.	Мертиолят натрия	«Sigma», США, кат. № T5125	
7.	Нейтральный красный	«Sigma», Индия, кат. № 72210	осч
8.	Хлороформ	ГОСТ 20015-88	
9.	Флаконы пластиковые с крышками навинчиваемыми	«Митра», Беларусь ТУ РБ 100626757.001-2003	ВМ-4 вместимость 4,0 мл
10.	Самоклеящиеся термоэтикетки	ЗАО «НТЦ АТ «Форинтек» THERMAL 200HD PLUS S2045N-BG40BR IMP	
Вспомогательное сырье и материалы (позиции, обеспечивающие производство продукта стадии/операции)			

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Яковлева А.Н.	Авдониная А.С.	Гашенко Т.Ю.
	Осинская А.Д.	
	Овинникова С.С.	

ЗАО «ЭКОлаб»		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» № 269-2019		
Стадия ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)»		
Дата введения: 09.01.2019г.	СОП-ПО-11-316	Стр. 4 из 7
Версия №1 Введено впервые	Действительно до:	Копия № 2

11.	ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG»	ТУ 21.20.23-269-70423725-2019	
12.	Образцы, содержащие и не содержащие антитела класса G к возбудителю эхинококкоза	«ИНВИТРО», г. Санкт-Петербург	
13.	Марля медицинская	ТУ 9393-001-75648687-2010	
14.	Вата медицинская	ГОСТ 5556-81	
15.	Перекись водорода	ФС 2.2.0005.15	хч
16.	Спирт этиловый 95, 96%	ФС 2.1.0036.15	

Примечания

* Для отечественных материалов – ГОСТ, ТУ или наименование фирмы-производителя с указанием каталожного номера; для импортных материалов – наименование фирмы-производителя, страна, каталожный номер. При возможности использования позиции любой спецификации ставится "-".

** Сорт, артикул, чистота (ч, хч и т.п.).

6. Процедура.

6.1. Подготовка к работе.

Подготовить к работе помещения, оборудование и персонал в соответствии с требованиями СОП-ВП-11-01, СОП-ВП-11-07, СОП-ПО-15-14, СОП-ТБ-11-09.

Ответственному за проведение работ получить у своего непосредственного руководителя производственное задание и проверить готовность к работе помещений, оборудования, готовность персонала и средств индивидуальной защиты для работы с потенциально инфицированным материалом. О замеченных недостатках сообщить непосредственному руководителю и принять меры к их устранению.

6.2. Ход технологического процесса.

6.2.1. (ТП-5-1) Приготовление вспомогательных растворов.

6.2.1.1. Приготовление 10% водного раствора мертиолята натрия.

На весах (поз. В-4) сделать навеску (из расчета на 1 л раствора): мертиолята – 100 г.

В бутыл для приготовления растворов вместимостью 1 л (поз. ПС-4-1) с помощью мерного цилиндра вместимостью 1 л (поз. ПС-1-1) отмерить 900 мл воды 2-ой ступени очистки (поз. Ф-1), внести навеску соли, перемешать на магнитной мешалке (поз. М-12) до полного растворения.

Емкость с раствором промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29. Хранить при температуре 2-8°C не более 12 мес.

6.2.1.2. Приготовление 0,2% водного раствора паранитрофенола.

На весах (поз. В-4) сделать навеску (из расчета на 1 л раствора): паранитрофенола – 2 г.

В бутыл для приготовления растворов вместимостью 1 л (поз. ПС-4-1) с помощью мерного цилиндра вместимостью 1 л (поз. ПС-1-1) отмерить 500 мл воды 2-ой ступени очистки (поз. Ф-1), внести навеску соли, перемешать на магнитной мешалке (поз. М-12) при нагреве платформы до 75°C до полного растворения. Довести объем водой 2-ой ступени очистки (поз. Ф-1) до 1 л.

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Яковлева А.Н.	Авдонина А.С.	Гашенко Т.Ю.
	Осинская А.Д.	
	Овинникова С.С.	

ЗАО «ЭКОлаб»		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» № 269-2019		
Стадия ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)»		
Дата введения: 09.01.2019г.	СОП-ПО-11-316	Стр. 5 из 7
Версия №1 Введено впервые	Действительно до:	Копия № 2

Емкость с раствором промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29. Хранить при 2-8°C не более 12 мес.

6.2.2. (ТП-5-2) Обработка сырья.

6.2.2.1. Инактивация сырья.

Сырьем для приготовления К+ служат предварительно отобранные сыворотки крови человека, содержащие антитела класса G к возбудителю эхинококкоза.

Сырьем для приготовления К- служат предварительно отобранные сыворотки крови человека, не содержащие антитела класса G к возбудителю эхинококкоза.

До использования сырье может храниться при минус 30°C (поз. Т-1).

Замороженное сырье разморозить при комнатной температуре и перелить в чистые термостойкие флаконы (поз. ПС-8). В каждый флакон с помощью дозатора пипеточного (поз. Д-7) добавить хлороформ из расчета 5% от объема сыворотки крови человека. Флаконы поместить в водяную баню (поз. Т-3) так, чтобы уровень воды превышал уровень сыворотки во флаконе. Нагреть водяную баню до 56°C и выдержать флаконы с сырьем при этой температуре в течение 30 мин. В маршрутную карту занести точное время начала и окончания инактивации.

Прогретое сырье охладить до комнатной температуры.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.2.2. Центрифугирование сырья.

Инактивированное сырье центрифугировать (поз. Ф-6) со скоростью 8000 об/мин, при температуре (8-10)°C в течение 60 мин. Через ватный фильтр перелить супернатант из центрифужных стаканов в колбу или бутылку для приготовления растворов (поз. ПС-2 или ПС-4). Замерить объем полученного фильтрата супернатанта.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.2.3. Добавление консерванта.

Исходя из объема полученного супернатанта, рассчитать объем 10 % раствора мертиолята, необходимый для получения конечной концентрации мертиолята в супернатанте, равной 0,1%.

С помощью дозатора пипеточного (поз. Д-7) внести в емкость с фильтратом супернатанта рассчитанный объем 10% раствора мертиолята.

6.2.2.4. Исследование сырья в ИФА.

Для определения пригодности инактивированного сырья для дальнейшего использования исследовать его в ИФА (поз. А-1) с референс-серией ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» в соответствии с инструкцией по применению набора.

Сырье для приготовления К+, содержащее по данным предварительного исследования антитела класса G к возбудителю эхинококкоза, считать пригодным для использования, если оптическая плотность (ОП) в лунках с ним больше 1,000.

Сырье для приготовления К-, не содержащее по данным предварительного исследования антитела класса G к возбудителю эхинококкоза, считать пригодным для использования, если оптическая плотность (ОП) в лунках с ним не более 0,150.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.3. (ТП-5-3) Приготовление К-.

Объединить в один пул обработанные сыворотки крови человека, не содержащие антитела класса G к возбудителю эхинококкоза. Добавить краситель паранитрофенол до достижения желтого цвета.

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Яковлева А.Н.	Авдониная А.С.	Гашенко Т.Ю.
	Осинская А.Д.	
	Овинникова С.С.	

ЗАО «ЭКОлаб»		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» № 269-2019		
Стадия ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)»		
Дата введения: 09.01.2019г.	СОП-ПО-11-316	Стр. 6 из 7
Версия №1 Введено впервые	Действительно до:	Копия № <i>2</i>

Емкость с реагентом промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29. Хранить до розлива при 2-8°C не более 12 мес.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.4. Приготовление К+.

Объединить в один пул обработанные сыворотки крови человека, содержащие анти-тела класса G к возбудителю эхинококкоза.

Экспериментальным путем подобрать титр для разведения пула положительных сывороток в К-, приготовив и исследовав в ИФА пробы следующих разведений: 1:10, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 и 1:1600. Оптимальным считать разведение, дающее значение оптической плотности (ОП) в ИФА не менее 1,000.

Согласно выбранному разведению приготовить К+ путем разбавления пула положительных сывороток в К-. Добавить к полученному общему объему краситель нейтральный красный до достижения красного цвета.

Емкость с реагентом промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29. Хранить до розлива при 2-8°C не более 12 мес.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.5. (ТП-5-5) Контроль в ИФА.

Новые серии К+ и К- проконтролировать в ИФА (поз. А-1) в ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG», используя их как исследуемые образцы в соответствии с требованиями инструкции по применению набора. Новые серии реагентов считать пригодными для использования, если ОП в лунках с ними соответствует нормативам ТУ на набор.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.6. (ТП-5-6) Розлив К- и К+, укупорка, маркировка.

Провести розлив К- и К+ по флаконам, укупорку и маркировку флаконов в соответствии с требованиями СОП-ПО-11-76.

Флаконы с К⁻ и К⁺ сложить в маркированные контейнеры (поз. КХ-1) и передать на хранение до комплектации тест-системы.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.7. (ТП-5-7) Хранение до комплектации набора

До использования при комплектации ИФТС хранить при 2-8°C (поз. Т-2)

Сделать записи в маршрутной карте.

6.3. Завершение работы.

6.3.1. По завершении операций (ТП-5-1)-(ТП-5-7) выполнить текущую уборку производственных помещений в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14 и обслуживание использованного оборудования в соответствии с требованиями инструкций по его эксплуатации.

6.3.2. (ВР-5-8) Обработка отходов

Плотные и жидкие отходы собирать и обрабатывать в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14.

7. Документация.

Процесс «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)» документировать записями в Маршрутных картах ЗФ01-ПО-11-316, ЗФ02-ПО-11-316 в соответствии с требованиями СОП-АД-01-13. Форму маршрутной карты см. в приложении 1 к настоящей инструкции. Заполненную маршрутную карту приобщить к «Досье на продукцию» в соответствии с требованиями СОП-АД-01-14.

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Яковлева А.Н.	Авдонина А.С.	Гашенко Т.Ю.
	Осинская А.Д.	
	Овинникова С.С.	

ЗАО «ЭКОлаб»		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС «ИФА-Эхинококкоз-IgG» № 269-2019		
Стадия ТП-5 «Приготовление контрольного положительного образца (К+), контрольного отрицательного образца (К-)»		
Дата введения: 09.01.2019г.	СОП-ПО-11-316	Стр. 7 из 7
Версия №1 Введено впервые	Действительно до:	Копия № 2

8. Ответственность.

Персонал, занятый на работах, описанных в настоящей инструкции, несет ответственность за выполнение ее требований в соответствии с действующими правилами.

9. Литература.

СОП-АД-01-31 «Порядок составления и оформления производственных инструкций в иммунохимических научно-производственных отделениях производства диагностических препаратов».

СОП-ВП-11-01 «Правила подготовки производственных помещений».

СОП-ВП-11-07 «Правила подготовки персонала для работы в производственных помещениях».

СОП-ТБ-11-09 «Инструкция по охране труда при работе с опасными отходами производства, зараженными или подозрительными на зараженность возбудителями инфекционных заболеваний».

СОП-АД-01-13 «Порядок составления заполняемых форм».

СОП-АД-01-14 «Порядок формирования Досье на серию готовой продукции».

СОП-ПО-15-14 «Порядок работы с потенциально инфицированным материалом».

СОП-ВП-14-08 «Инструкция по подготовке посуды, укупорочных материалов и емкостного оборудования».

СОП-ПО-11-76 «Порядок розлива и маркировки набора реагентов тест-систем производства ДП».

СОП-ИО-11-27 «Порядок эксплуатации весов электронных».

СОП-ИО-11-46 «Порядок эксплуатации вошера Hydroflex».

СОП-ИО-11-22 «Порядок эксплуатации магнитных мешалок».

СОП-ИО-11-23 «Порядок эксплуатации дозаторов пипеточных с переменным объемом «Ленпипет».

СОП-ИО-11-26 «Инструкция настольного рН-метра Hanna HI 2211».

СОП-ИО-03-05 «Инструкция по эксплуатации установки «Медиана-фильтр» для получения воды очищенной».

СОП-ИО-11-04/1 «Инструкция по эксплуатации этикетировочного комплекса ALS204».

СОП-ИО-11-19 «Инструкция по эксплуатации холодильника бытового».

СОП-АД-01-29 «Применение идентификационных и статусных этикеток на предприятии».

10. Распределение данной инструкции.

Подразделение	Экземпляр	Число
ООК	Оригинал	1
НПО «ИППП»	Копия 1	1

Составил (изменил)	Согласовали	Утвердил
Яковлева А.Н.	Авдонина А.С.	Гашенко Т.Ю.
	Осинская А.Д.	
	Овинникова С.С.	

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
лист _____
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
"29" _____ 2019 г.