«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____ М.Д. Хусаинов

«22» декабря 2022 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного

выявления иммуноглобулинов класса G к *Trichomonas vaginalis*

(Trichomonas vaginalis – IgG –ИФА-БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к *Trichomonas vaginalis* в сыворотке *(плазме)* крови человека методом иммуноферментного анализа и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов. Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли *(по 3 лунки используют для постановки контролей)*.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением антигена цитоадгезина *Trichomonas vaginalis*, который иммобилизован в лунках полистироловых планшетов. Во время первой инкубации происходит связывание специфических IgG к *Trichomonas vaginalis*, содержащихся в исследуемых образцах сывороток крови, с иммобилизованным на поверхности лунок стрипов антигеном *Trichomonas vaginalis*. На втором этапе антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена, связываются с комплексом «антиген-антитело».

Во время третьей инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя **оптическую плотность (ОП)** в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса G к *Trichomonas vaginalis*.

После измерения ОП раствора в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит}$ анализируемые образцы оцениваются как положительные, сомнительные или отрицательные.

2.2. Состав набора:

- планшет разборный с иммобилизованным антигеном *Trichomonas vaginalis* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$), инактивированный – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец ($К^-$), инактивированный – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат, лиофилизированный – 1 фл.;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином – 1 фл., 28 мл;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл;
- раствор тетраметилбензидина (ТМБ) – 1 фл., 13 мл;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнками для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4-200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. **Чувствительность** по IgG к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия *(СПП 05-2-201)* – 100%.

3.2. **Специфичность** по IgG к *Trichomonas vaginalis* по стандартной панели предприятия *(СПП 05-2-201)* – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1 *(ГОСТ Р 51609-2000).*

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

* работать в резиновых перчатках;
* не пипетировать растворы ртом;
* все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113 от 29.10.98.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения ОП растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2–8) °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%)*;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%)*;
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) °С не более 5 суток, либо при температуре минус (20±3) °С, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин в течение 10–15 минут.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем и хранить при температуре (2–8) °С в течение 1 месяца. Флаконы с исходными компонентами после вскрытия плотно закрыть и хранить при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки *(стрипа, планшета)* заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через край лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, стоп-реагент, раствор ТМБ)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Наконечники для пипеток *(автоматических дозаторов)* следует использовать однократно.
- Посуду *(ванночки)*, используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования посуду *(ванночки)* для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду *(ванночки)* для раствора ТМБ сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- 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 *(МУ-231-113 от 29.10.98)*.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. Промывочный раствор.

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 *(см. таблицу)* и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

Хранение: при температуре (2–8) °С до 72 часов.

7.2.2. Растворы конъюгата.

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приготовить концентрированный раствор конъюгата путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в **1,0 мл РПР**.

Хранение: концентрированный раствор конъюгата – при температуре (2–8) °С до 1 месяца.

Внимание! *Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!*

Перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо аккуратно перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флаконов с концентратом конъюгата и с РК.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество *(см. таблицу)* концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК и аккуратно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

7.2.3. Раствор ТМБ.

Внимание! *Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ. Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать* ***только*** *для работы с раствором ТМБ.*

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ *(см. таблицу)*. Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать *(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ)*.

Хранение: при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Проведение анализа.

7.3.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) °С в течение 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор *(п. 7.2.1)*, концентрированный раствор конъюгата *(п. 7.2.2)*.

Внимание! *Концентрированный раствор конъюгата должен быть приготовлен, как минимум, за 15 минут до постановки ИФА и выдержан при температуре (18–25) °С.*

7.3.2. Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть один раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по 400 мкл промывочного раствора. По истечении 5 минут раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.3. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл РС**. В любые две лунки внести по **20 мкл $К^-$**, в одну лунку – **20 мкл $К^+$**, во все остальные лунки внести по **20 мкл исследуемых образцов сыворотки** *(плазмы)*, получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться аккуратным перемешиванием *(пипетирование не менее 4 раз)*. Не допускать вспенивания и касания наконечником дна и стенок лунки.

Таблица расхода реагентов

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Концентрированный раствор конъюгата, мкл	а*	2×а	3×а	4×а	5×а	6×а	7×а	8×а	9×а	10×а	11×а	12×а
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Раствор ТМБ												
Раствор ТМБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

***α = ▲▲▲ мкл**

Примечание: количество концентрированного раствора конъюгата ***(а) в мкл*** *указано в паспорте и инструкции на данную серию наборов.*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **30 минут**.

За 5–10 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении *(п. 7.2.2)*.

7.3.4. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки 5 раз промывочным раствором и тщательно удалить влагу.

Внимание! *Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл рабочего промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.*

7.3.5. Внести во все лунки по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

Внимание! *Для внесения раствора конъюгата в рабочем разведении использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **30 минут**.

По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть 5 раз промывочным раствором, удалить влагу как описано выше.

7.3.6. Внести в каждую лунку по **100 мкл раствора ТМБ** *(п. 7.2.3)*.

Внимание! *Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, прилагаемые к набору.*

Стрипы поместить в защищённое от света место при температуре (18–25) °С на **30 минут**.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2–3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень *(«бланк»)* осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

значение ОП в лунках с $К^+$ не менее 0,60 ($ОПК^+ \geq 0,60$);

среднее значение ОП в лунках с $К^-$ образцом не более 0,25 ($ОП_{ср}К^- \leq 0,25$).

Вычислить **критическое значение ОП ($ОП_{крит}$)** по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}\,К^- + 0,35,}$$

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

где $ОП_{ср}К^-$ – среднее арифметическое значение ОП в лунках с $К^-$.

Исследуемый образец оценить как:

положительный, т.е. содержащий IgG к *Trichomonas vaginalis*, если значение $ОП_{обр} \geq ОП_{крит}$;

отрицательный, т.е. не содержащий IgG к *Trichomonas vaginalis*, если полученное для него значение $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,1$;

сомнительный, если $ОП_{крит} - 0,1 < ОП_{обр} < ОП_{крит}$.

9.2. Интерпретация результатов:

ОП сыворотки	Результат	Титр IgG
$\mathbf{ОП_{обр}} \leq ОП_{крит} - 0,1$	отрицательный	–
$ОП_{крит} - 0,1 < \mathbf{ОП_{обр}} < ОП_{крит}$	сомнительный	–
$ОП_{крит} \leq \mathbf{ОП_{обр}} \leq 3 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
$3 \times ОП_{крит} < \mathbf{ОП_{обр}} \leq 5 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
$5 \times ОП_{крит} < \mathbf{ОП_{обр}} \leq 7 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
$7 \times ОП_{крит} < \mathbf{ОП_{обр}} \leq 9 \times П_{крит}$	сильноположительный	1:40
$\mathbf{ОП_{обр}} > 9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С. Замораживание не допускается.

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

По вопросам, касающимся качества набора обращатьсяв ***АО «Вектор-Бест»*** *по адресу:*
630559, п. Кольцово, Новосибирской обл,
Новосибирского района, а/я 121,
тел. (383) 332-92-49, 227-60-30, 227-67-64,
тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44, 336-73-46.
E:mail: plkobtk@vector-best.ru

и в ***лабораторный центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора*** *по адресу:*
117246, Москва, Научный проезд, д. 14А,
тел. (495) 120-60-95; 120-60-96.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться обученным персоналом;
- При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов следует проводить по МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

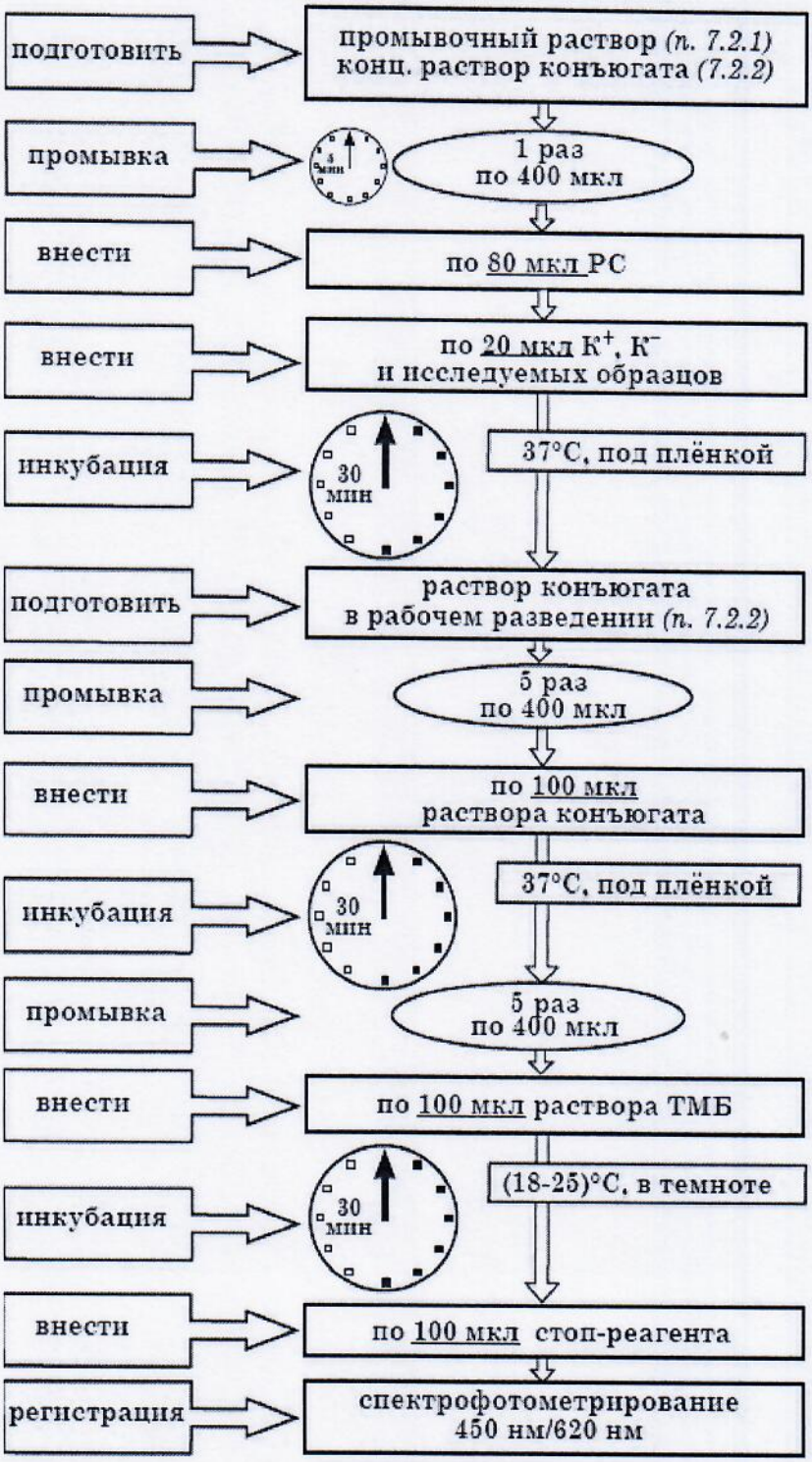
ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n количества тестов	NON STERILE	Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел. (383) 332-81-44.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Схема анализа D-2052



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru