



Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG, IgM, IgA АНТИТЕЛ
К АНТИГЕНАМ GIARDIA LAMBLIA
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUALITATIVE DETERMINATION
OF IgG, IgM, IgA ANTIBODIES TO Giardia lamblia
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

anti-Giardia Lamblia-EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K171**

ТУ № 9398-171-18619450-2012

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2012/13633 от 29 июня 2012 г.



For 96 determinations



только для *ин витро* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 4th Vosmogo Marta st., 3, bld.3, apt.2

125319 Moscow, Russia

Telephone/fax +7(495) 737-39-36; 737-00-40

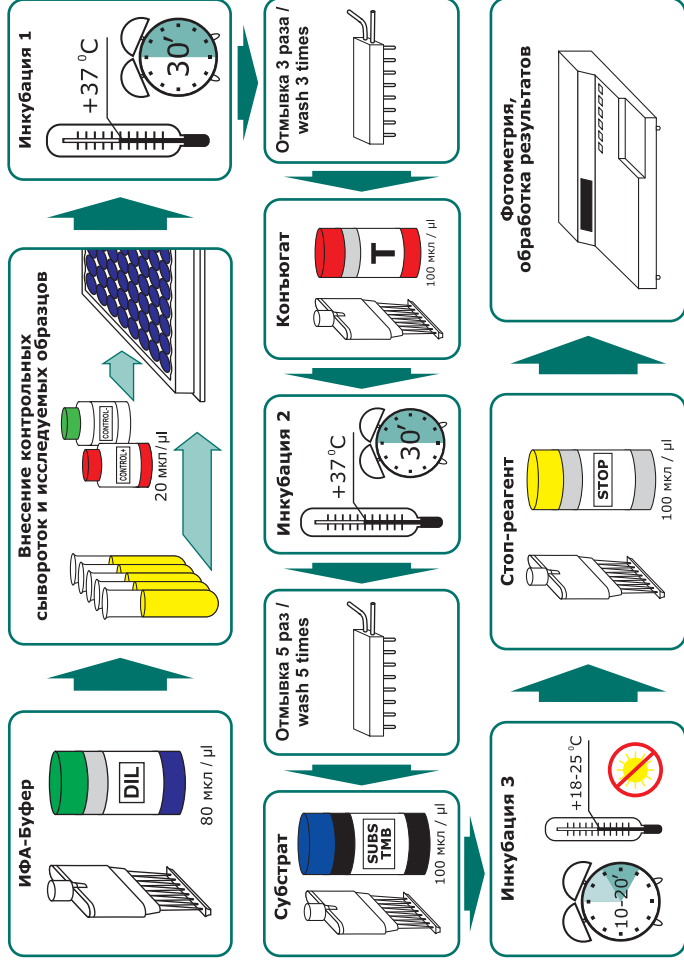
e-mail: info@xema.ru

Internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K171

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	3
5. СОСТАВ НАБОРА	4
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	4
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	5
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	6
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	7
11. ЛИТЕРАТУРА	7

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG, IgM, IgA АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ GIARDIA LAMBLIA В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «АНТИЛЯМБЛИЯ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» предназначен для качественного определения концентрации IgG, IgM, IgA антител к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. *Giardia lamblia* (*intestinalis*) вызывает гиардиоз (лямблиоз) – паразитарную инвазию, которая протекает в виде латентного паразитоносительства и манифестных формах (нарушение функций кишечника). Возбудитель лямблиоза распространен повсеместно, особенно в регионах с низкой санитарной культурой. Основным механизмом заражения *Giardia lamblia* является фекально-оральный путь. Заболевание распространено среди всех возрастных групп, однако, основной контингент составляют дети дошкольного возраста.

Вегетативные формы паразита существуют только на поверхности слизистой оболочки верхнего отдела тонкой кишки. Это приводит к тому, что лямблии механически блокируют слизистую оболочку и нарушают пристеночное переваривание и двигательную активность тонкой кишки. Лямблии вызывают ухудшение всасывания жиров, углеводов, витаминов С и В12. Стоит заметить, что из-за лабильности к действию желчных кислот *Giardia lamblia* не может непосредственно вызывать заболевание печени и холецистохолангиты, но обуславливает вторичную бактериальную инфекцию (вследствие рефлекторной дискинезии желчных путей).

Симптомами лямблиоза могут быть диарея, усталость, отек, апатия, потеря массы тела, сниженный аппетит, бледность, мышечные судороги. В желудочно-кишечном тракте лямблиоз проявляется главным образом в виде энтероколита с катаральными проявлениями.

Диагностику инфекции, вызванной *Giardia lamblia*, проводят микроскопическим или культуральным методом, а также, путем определения специфических антител в сыворотке крови.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение антител к антигенам лямблий основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антигены *Giardia lamblia*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – смеси антивидовых (специфических к антителам классов IgG, IgM, IgA) моноклональных антител с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию специфических антител к антигенам лямблий. Индекс позитивности (ИП, %) антител к антигенам лямблий в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность и чувствительность. Чувствительность Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» оценивали с помощью панели охарактеризованных сывороток, которая состоит из 42 образцов сывороток крови человека, содержащих антитела к *Giardia lamblia*. В Наборе реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» все сыворотки были определены как положительные. При исследовании 158 отрицательных на антитела к *Giardia lamblia* сывороток показатель специфичности составил более 98 %.

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания антител к антигенам *Giardia lamblia* в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» не превышает 8,0 %.

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» (Intra-assay):

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %	CV2, %
1	32	3,4	2,9	2,8
2	32	9,1	4,8	5,0

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на одной серии Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» в течение трех дней (Inter-assay):

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %
1	8	3,1	3,9
2	8	9,0	6,2

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5,0 % раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть 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.).

Национальный стандарт Российской Федерации. Лаборатории медицинские. Требования безопасности Medical Laboratories, REQUIEREMENTS FOR SAFETY Гост Р52905-2007 (ИСО 15190:2003).

4.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P171Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	CN171Z CP171Z	CONTROL- CONTROL+	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием антител к антигенам лямблий; готовы к использованию (0,5 мл и 0,2 мл соответственно)	2	шт	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T171Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (11 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	SP171Z	DIL	Буфер для разведения образцов ; готов к использованию (11 мл)	1	шт	прозрачная жидкость красного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) ; готов к использованию (11 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 21X	Концентрат отмывочного раствора , 21x-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент ; готов к использованию (11 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9	K171I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»	1	шт	-
10	K171Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»	1	шт	-

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ,
НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру +37 °C ± 0,1 °C;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки одноразовые резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдерживать при комнатной температуре (+18...+25 °С) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с Планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы тщательно заклеить Бумагой для заклеивания планшета, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество Концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 21 раз (1 мл Концентрата отмывочного раствора + 20 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 5 суток. Не допускается замораживание целого Набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить Бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Буфер для разведения образцов, Конъюгат, Раствор субстрата ТМБ, Стоп-реагент – после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Контрольные сыворотки после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным Концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 5 суток или при температуре +2...+8 °С не более 30 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия.

Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для Контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	Внесите во все лунки Планшета по 80 мкл Буфера для разведения образцов.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 20 мкл Контрольных сывороток. В остальные лунки внесите в дубликатах по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, Контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 5–10 минут.
4	ВНИМАНИЕ! При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте Планшет Бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте Планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните Планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл Конъюгата.
8	Заклейте Планшет Бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл Раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ). Внесение Раствора субстрата ТМБ в лунки необходимо произвести в течение 2–3 минут. Инкубируйте Планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл Стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения Стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
13	Рассчитайте содержание антител к антигенам лямблий в исследуемых образцах. Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $ОП (CN171Z)_{Cp} = (ОП1 (CN171Z) + ОП2 (CN171Z) + ОП3 (CN171Z)) / 3;$ Результаты анализа считать достоверными, если: — ОП Положительного контроля не ниже 0,6 оптических единиц (ОЕ); — ОП Отрицательного контроля не выше 0,15 ОЕ во всех лунках; — ОП каждого значения Отрицательного контроля отличается не более чем в два раза от среднего значения Отрицательного контроля, т.е. $ОП (CN171Z)_{Cp} \times 0.5 < ОПn (CN171Z) < ОП (CN171Z)_{Cp} \times 2.0;$ — одно из значений Отрицательного контроля выходит за пределы этого интервала, то его значение не участвует в расчете ОП (CN171)Cp. 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.25 Cut off = ОП (CN171Z)Cp + 0.25 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off ИП = ОПобразца / Cut off

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

10.2. Интерпретация результатов:

- при $ИП > 1,1$ образец положительный;

- при $ИП < 0,9$ образец отрицательный;

- при значении ИП, лежащем в промежутке от 0,91 до 1,09 – результат в пограничной зоне (+/-). Такие сыворотки рекомендуется исследовать повторно. Если повторный полученный результат будет неопределенным, то следует провести тестирование сыворотки, полученной через 2-4 недели. В случае получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Возбудители протозойных инфекций человека // Медицинская микробиология/ Гл. ред. В.И. Покровский, О.К.Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 928-940.
2. В.Ф.Лобода, А.О.Луцук, А.Б.Кабакова та ін. Роль лямблій в патології органів травлення у дітей // Інфекційні хвороби. - 1997. - № 2. - С.28-30.
3. Шабалов Н.П., Староверов Ю.И. Лямблиоз у детей // Новый медицинский журнал. - 1998.- №3.- С. 22-26.

По вопросам, касающимся качества Набора **«антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»**,
следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, Москва, а/я 58,

















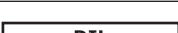
тел./факс: (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru

интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Символ	Значение символа
	Производитель
	Дата производства
	Номер по каталогу
	Номер серии
	Использовать до (год-месяц)
	Ограничение температуры
	Только для ин витро диагностики
	Внимание!
	Не использовать при нарушении целостности упаковки
	Планшет
	Калибровочные пробы
	Контрольная сыворотка
	Конъюгат
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)
	Концентрат отмывочного раствора
	Стоп-реагент
	ИФА-Буфер

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими Наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент и т.д.), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств диагностики
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинских лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58, ул. 9-я Парковая,

д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «ХЕМА», тел.: (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 521-3-521;

03022 Киев, ул. Васильковская, д. 98, 2 этаж;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

