

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного выявления  
иммуноглобулинов класса G к грибам  
рода *Candida* в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

**Кандида-IgG – ИФА – БЕСТ**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-4652**



## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

**1.1.** Набор реагентов «Кандида-IgG – ИФА – БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к грибам рода *Candida* в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Выявление иммуноглобулинов класса G к грибам рода *Candida* может быть использовано для диагностики кандидоза различной этиологии в совокупности с результатами культуральной диагностики и клиникой заболевания, а также дифференциальной диагностики смешанных инфекций, вызванных грибами *Candida* и бактериями.

**1.3.** Набор реагентов рассчитан на проведение 48 анализов при нанесении образцов в дублях или 12 анализов в последовательных двукратных разведениях сывороток от 1:100 до 1:12800, включая контроли.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

### 2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

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

комплекса «антиген-антитело» на поверхности лунок. После удаления несвязавшихся компонентов сыворотки (плазмы) и добавления в лунки планшета конъюгата антител к IgG человека с пероксидазой хрена происходит включение ферментной метки в иммунный комплекс.

В результате ферментативной реакции, проведенной в лунках, отмытых от избытка конъюгата, с раствором ТМБ и перекисью водорода образуется окрашенный продукт, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации IgG к антигенам *Candida albicans* в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови.

## 2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами *Candida albicans*, готовый для использования – 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;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС; прозрачная жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10,0 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;
- 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. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Чувствительность и специфичность – 100% при проверке на сыворотках стандартной панели предприятия (СПП), содержащих и не содержащих иммуноглобулины класса G к *Candida albicans*.

### **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

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

**4.2.** Все компоненты набора являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. *В случае попадания 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 инфекционный материал, способный 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 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , дioxлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

## **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 620–655 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. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

**6.2.** Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес. Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

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

**6.4.** 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 проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, следует выдержать 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 индивидуальными наконечниками для пипеток.

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

### **7.3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО БУФЕРНОГО РАСТВОРА**

Рабочий буферный раствор приготовить разведением исходного концентрата ФСБ-Т в 25 раз.

Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) 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 от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Хранение: не более 5 суток при 2–8°C.

#### 7.4. ПОДГОТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО (K<sup>+</sup>) И ОТРИЦАТЕЛЬНОГО (K<sup>-</sup>) КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

#### 7.5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЬЮГАТА

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

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

#### 7.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

**Внимание!** Рабочий раствор ТМБ готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора. Рекомендуется выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбен-

**Таблица расхода компонентов набора реагентов**

Количество одновременно используемых стрипов	Рабочий буферный раствор		Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор ТМБ	
	ФСБ-Т, концентрат, мл	Вода дистиллированная, мл	Конъюгат, концентрат, мл	Рабочий буферный раствор, 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

*зидином. 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 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.*

#### 7.7. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ СЫВОРОТКИ (ПЛАЗМЫ) КРОВИ.

Исследуемые образцы сывороток (плазмы) крови 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) крови, 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.*

## 7.8. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимые 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.

*Неиспользованные стрипы хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.*

## 8. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

**Внимание!** В комплект набора входит пленка для заклеивания планшета при инкубации в термостате растворов сывороток и конъюгата. При использовании одного или нескольких стрипов следует отрезать полоску пленки нужного размера и клейкой стороной закрыть все лунки. При извлечении стрипов из термостата пленку удалить и поместить в дезинфицирующий раствор.

Пленка предназначена для одноразового использования.

### 8.1. Внести контрольные образцы:

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

В остальные лунки внести по 90 мкл рабочего буферного раствора и по 10 мкл образцов сывороток (плазмы) крови в предварительном разведении (п. 7.7), тщательно перемешать, та-

ким 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 1:128000. В лунки горизонтального ряда А внести по 200 мкл разведения 1:100 исследуемых образцов, приготовленных, как описано выше (п. 7.7.). В лунки рядов В–Н внести по 100 мкл рабочего буферного раствора. Каждую сыворотку (плазму) 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. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз рабочим буферным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. *Время*

*между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.*

**8.3.** Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.5).

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 планшет 5 раз так, как указано в п. 8.2.

**8.5.** Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидаина (п. 7.6.) и инкубировать в темноте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C.

*Для внесения рабочего раствора тетраметилбензидаина 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 тетраметилбензидаина, по 100 мкл стоп-реагента (при этом цвет раствора в лунках меняется на желтый).

## 9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; или при длине волны 450 нм.

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  $K^+$  и  $K^-$ ;  
по 90 мкл рабочего буферного раствора и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых сывороток.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочим буферным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочим буферным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.

**Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.  
**Измерить:** ОП при 450 нм / референсная  
длина волны 620–655 нм.

## 11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

**11.1.** Рассчитать средние арифметические значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>); 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 0,8 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<sub>д</sub>) по формуле:

$$\text{ОП}_д = \text{ОП}_ср \text{ К}^- + 0,22.$$

**11.5.** Результат анализа считают **положительным**, если  $\text{ОП}_{обр} \geq \text{ОП}_д$ .

Результат анализа считают **отрицательным**, если  $\text{ОП}_{обр} \leq 0,85 \times \text{ОП}_д$ , где ОП<sub>обр</sub> – среднее

значение оптической плотности анализируемого образца в лунке, ед. опт. плотн.

Если оптическая плотность исследуемой сыворотки находится в диапазоне от  $0,85 \times \text{ОП}_д$  до  $\text{ОП}_д$ , тогда результат следует считать **сомнительным**, и 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 ( $\text{ОП}_{\text{обр}} \geq \text{ОП}_д$ ).

**11.7.** При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgG к антигенам *Candida albicans* в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

## **12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА**

**12.1.** Набор «Кандида-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 не выше 25°C не более 10 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается.

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

**12.3.** При постановке иммуноферментного анализа (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.*

**12.4.** 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,  
тел./факс (383) 332-67-49.  
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

За справками и консультацией обращаться  
в отделение диагностики паразитарных инфекций,  
тел. (383) 336-55-56

08.07.10.

**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  
ТОРСН-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](mailto:vbmarket@vector-best.ru)  
Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)