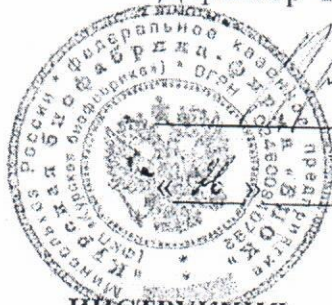


УТВЕРЖДАЮ

Директор ФКП «Курская биофабрика»



В.М. Безгин

2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по ветеринарному применению набора для выявления иммуноферментным методом собак и других плотоядных, инфицированных *Brucella canis*

(Организация-разработчик: Федеральное казенное предприятие «Курская биофабрика» (ФКП «Курская биофабрика»), 305004, Рязань, ул. Рязина, 5) — фирма «БРИОК»

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. Торговое наименование: Набор для выявления иммуноферментным методом собак и других плотоядных, инфицированных *Brucella canis* (далее — набор).

Международное непатентованное наименование: Набор для выявления иммуноферментным методом собак и других плотоядных, инфицированных *Brucella canis*.

2. В состав набора входят иммуноспецифические и химические компоненты:

- компонент № 1 — полистироловый 96-луночный планшет для иммуноферментного анализа с адсорбированным в лунках R-бруцеллезным антигеном — 2 шт.;

- компонент № 2 — сыворотка крови кролика к R-бруцеллезному антигену (положительный контроль), 0,2 см³ — 1 флакон;

- компонент № 3 — сыворотка крови кролика, не содержащая R-бруцеллезных антител (отрицательный контроль), 0,2 см³ — 1 флакон;

- компонент № 4 — конъюгат — моноклональные антитела к R-бруцеллезному антигену, меченные пероксидазой, концентрированный (рабочее разведение указывается для каждой серии), 0,5 см³ — 1 флакон;

- компонент № 5 — концентрат (x 20) промывочного буферного раствора, 20,0 см³ — 1 флакон;

- компонент № 6 — концентрат (x 20) буферного раствора для разведения конъюгата, 5 см³ — 1 флакон;

- компонент № 7 — раствор субстрата (H₂O₂), 22,0 см³ — 1 флакон;

- компонент № 8 — раствор хромогена (ТМБ), 0,6 см³ — 1 флакон;

- компонент № 9 — останавливающий раствор (1 М раствор фосфорной кислоты), 20,0 см³ — 1 флакон.

3. Компонент № 1 — полистироловый 96-луночный планшет для иммуноферментного анализа с иммобилизованным в лунках R-бруцеллезным антигеном;

компонент № 2 — прозрачная жидкость соломенно-жёлтого или красноватого цвета;

компонент № 3 — прозрачная жидкость соломенно-жёлтого или красноватого цвета;

компонент № 4 — жидкость красного цвета;

компонент № 5 — прозрачная бесцветная жидкость;

компонент № 6 — жидкость розового цвета;

компонент № 7 — прозрачная бесцветная жидкость;

компонент № 8 — прозрачная бесцветная жидкость;

компонент № 9 — прозрачная бесцветная жидкость.

Компонент № 1 (96-луночный планшет) упакован в индивидуальный маркированный полиэтиленовый пакет с влагопоглотителем. Остальные компоненты набора расфасованы в маркированные флаконы из непрозрачного полиэтилена соответствующей вместимости, с закручивающимися пробками. В каждую коробку вложена инструкция по применению набора.

Срок годности компонентов набора — 12 месяцев от даты изготовления.

По истечении срока годности набор не должен применяться.

4. Набор рассчитан на 188 проб (по 94 анализа проб сывороток крови на каждом (2 шт.) полистироловом планшете при одновременном использовании). Компонировка набора допускает возможность дробного использования компонентов для проведения исследований в разное время по мере поступления биологического материала, в этом случае количество анализируемых проб уменьшается на количество контрольных проб при проведении каждого анализа.

5. Хранить набор в защищенном от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С. Набор после вскрытия можно использовать в течение 30 суток при соблюдении условий хранения.

Допускается транспортирование набора всеми видами крытого транспорта в упаковке производителя в условиях, исключающих нагрев выше 25 °С, в течение не более 15 суток.

Не допускается замораживание компонентов!

6. Набор следует хранить в местах, недоступных для детей.

7. При нарушении целостности и укупорки флаконов, упаковки полистироловых планшетов и пакетов, изменении цвета компонентов, наличии посторонней примеси, при отсутствии этикеток, а также по истечении срока годности набор выбраковывают, иммуноспецифические компоненты инактивируют кипячением в течение 15 мин. Неиспользованные планшеты дезинфицируют в 3 % растворе хлорамина и утилизируют любым доступным, разрешенным методом. Утилизация неспецифических компонентов наборов не требует специальных мер безопасности.

8. Отпускается без рецепта.

II ПРИНЦИП МЕТОДА

9. Метод основан на конкурентном взаимодействии конъюгированных с пероксидазой моноклональных антител к R-бруцеллезному антигену и R-LPS-бруцеллезных антител (присутствующих в сыворотке крови исследуемого животного, инфицированного *Brucella canis*) за связывание с R-бруцеллезным антигеном, адсорбированным на поверхности лунок стрипов полистироловых планшетов с использованием моноклональных антител. При отсутствии в исследуемой сыворотке крови R-LPS-бруцеллезных антител моноклональный конъюгат свободно взаимодействует и полностью связывается с адсорбированным на поверхности лунок стрипов полистироловых планшетов антигеном *Brucella canis*, формируя иммунный комплекс. Последний выявляется в процессе выполнения последовательных этапов конкурентного варианта иммуноферментного анализа (ИФА), включающих его взаимодействие с субстратной смесью и останавливающим раствором, в результате чего в лунке стрипа развивается окраска. Если исследуемая сыворотка содержит R-LPS-бруцеллезные антитела, то они взаимодействуют с адсорбированным на поверхности лунок стрипов полистироловых планшетов антигеном *Brucella canis*, частично или полностью блокируя антиген. В результате связывание моноклонального конъюгата с антигеном не происходит или происходит частично и, соответственно, окрашивание в лунке стрипа отсутствует или интенсивность окраски снижается. Таким образом, интенсивность окраски реакционной смеси в лунке стрипа обратно пропорциональна концентрации антител в исследуемой сыворотке крови. С учетом результатов реакций с контрольными сыворотками, определяют наличие R-LPS-бруцеллезных антител в исследуемом образце.

10. Набор является диагностическим препаратом для ветеринарного применения.

III ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

11. Набор предназначен для выявления собак и других плотоядных, инфицированных *Brucella canis*, иммуноферментным методом.

12. Запрещено смешивать компоненты наборов разных серий. Исследования разрешается проводить только ветеринарным врачам и фельдшерам со специальным средним образованием под контролем ветеринарного врача.

13. Меры личной профилактики при проведении диагностических исследований с использованием набора сводятся к соблюдению санитарно-эпидемиологических правил и техники безопасности при работе с биологическим материалом. Все лица, участвующие в исследовании, должны быть одеты в спецодежду. В местах работы должна быть аптечка первой доврачебной помощи.

В случае попадания компонентов набора и исследуемого материала на открытые участки тела или слизистые оболочки, их смывают большим количеством водопроводной воды с мылом.

14. Особенности проведения диагностики у беременных животных и в период лактации не выявлено, на потомство исследование не оказывает влияния.

15. Проведение исследования.

15.1. Для исследования используют сыворотки крови животных, невакцинированных против бруцеллеза, без признаков гемолиза и бактериальной контаминации, объемом не менее 0,5 см³. Допускается хранение образцов при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 72 ч или при температуре не выше минус 20 °С в течение 60 суток после их получения. Размораживать образцы сыворотки крови необходимо в водяной бане при температуре (37,0 ± 0,5) °С. Не рекомендуется многократное замораживание и оттаивание образцов.

15.2. Для проведения ИФА требуются одно- и восьмиканальные пипетки переменного объема до 0,01; 0,20; 1,0; 5,0 и 10,0 см³ со сменными наконечниками, мерная лабораторная посуда, термостат с температурой нагрева (37,0 ± 0,5) °С, дистиллированная вода, бытовой холодильник, фильтровальная бумага, контейнер, система промывания планшетов, которая распределяет по 0,3 см³ раствора в лунку, спектрофотометр (ридер) для микропланшетов любой модели с фильтром на 450 нм для учёта результатов ИФА.

15.3. Перед началом работы набор выдерживают 25–30 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С. Сразу после проведения анализа неиспользованные компоненты убирают в холодильник с температурой от 2 °С до 8 °С.

15.4. Перед началом работы составляют план проведения исследования.

15.5. Подготовка рабочих растворов.

15.5.1. Промывочный буферный рабочий раствор. Компонент № 5 разбавляют дистиллированной водой в 20 раз и тщательно перемешивают (например, для получения 200 см³ промывочного буферного рабочего раствора к 10 см³ концентрата добавляют 190 см³ дистиллированной воды).

15.5.2. Буферный рабочий раствор для разведения конъюгата. Компонент № 6 разбавляют дистиллированной водой в 20 раз и тщательно перемешивают (например, для получения 50 см³ буферного раствора к 2,5 см³ концентрата добавляют 47,5 см³ дистиллированной воды). После разведения буферный рабочий раствор можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 5 суток.

15.5.3. Рабочий раствор конъюгата. Компонент № 4 разбавляют буферным рабочим раствором для разведения конъюгата согласно концентрации, указанной на этикетке. Например, имея 40-кратный концентрат, в расчёте на один планшет, к 0,25 см³ компонента № 4 добавляют 10,0 см³ буферного рабочего раствора. Рабочий раствор конъюгата хранить нельзя.

15.5.4. Субстратная смесь. Субстратную смесь изготавливают после завершения промывания лунок. Для приготовления 10 см³ раствора субстратной смеси, необходимого для проведения реакции на одном планшете, смешивают 10,0 см³ раствора компонента № 7 и 0,25 см³ раствора компонента № 8. Подготовленный раствор субстратной смеси должен быть бесцветным и стабильным в течение 15 мин. Раствор субстратной смеси с изменённым цветом не используют.

15.5.5. Компоненты набора №№ 2 и 3 (положительный и отрицательный контроли) и № 9 (останавливающий раствор) не требуют предварительной подготовки.

15.6. Постановка реакции.

15.6.1. Наслаивание сывороток. Сыворотки крови плотоядных животных исследуют в разведении 1:10 в рабочем растворе конъюгата.

Из комплекта набора берут пакет с компонентом № 1 (полистироловым 96-луночным планшетом для иммуноферментного анализа с адсорбированным в лунках R-бруцеллезным антигеном). При необходимости отбирают требуемое количество стрипов, помещают в рамку-держатель и маркируют водостойким маркером из-за возможного выпадения их из рамки во время проведения исследования. Неиспользованные стрипы помещают в пакет с влагопоглотителем и хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С. Неиспользуемые лунки цельного планшета можно со-

хранить для дальнейшего использования, если немедленно заклеить их герметичной водонепроницаемой плёнкой. Компонент № 1 (планшет) используют однократно.

В лунки стрипов полистиролового планшета в соответствии с подготовленным планом исследования вносят по $0,09 \text{ см}^3$ рабочего раствора конъюгата, подготовленного согласно п. 15.5.3.

Внесение контролей:

- в лунку А1 полистиролового планшета вносят $0,01 \text{ см}^3$ компонента № 2 (положительного контроля);

- в лунку В1 полистиролового планшета вносят $0,01 \text{ см}^3$ компонента № 3 (отрицательного контроля).

Внесение контролей в лунки А1 и В1 не обязательно, они могут быть внесены в другие лунки планшета. **Необходимо тщательное перемешивание сывороток в лунках.**

В остальные лунки полистиролового планшета вносят по $0,01 \text{ см}^3$ испытуемых проб сывороток крови.

Для внесения каждой пробы сыворотки крови используют новый наконечник.

15.6.2. Полистироловый планшет накрывают крышкой и инкубируют 1 ч (± 5 мин) при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

15.6.3. Промывание лунок планшетов.

Содержимое лунок полистиролового планшета удаляют, используя автоматические или ручные промывающие системы, в крайнем случае, допускается встряхивание. Все лунки планшета промывают 5 раз рабочим промывочным буферным рабочим раствором, подготовленным по п. 15.5.1 (по $0,3 \text{ см}^3$ в каждую лунку), затем раствор удаляют. Во время обработки большого количества планшетов (с целью синхронизации этапов) можно оставлять планшеты с промывочным буферным рабочим раствором до 20 мин.

После последнего промывания необходимо осторожно постучать планшетом по впитывающему материалу (фильтровальной бумаге) с целью полного удаления содержимого лунок.

15.6.4. Обнаружение (внесение субстратного раствора).

В каждую лунку полистиролового планшета вносят по $0,1 \text{ см}^3$ субстратного раствора, подготовленного согласно п. 15.5.4. Вносить раствор необходимо аккуратно, не касаясь лунок планшета.

Планшет накрывают крышкой и инкубируют при температуре от $18 ^\circ\text{C}$ до $24 ^\circ\text{C}$ в защищённом от прямых солнечных лучей месте от 1 мин до 5 мин до проявления ярко выраженного синего окрашивания в лунке с отрицательным контролем.

15.6.5. Остановка реакции.

В каждую используемую лунку полистиролового планшета вносят по $0,08 \text{ см}^3$ компонента № 9 (останавливающего раствора). Не допускается контакт наконечника, содержащего останавливающий раствор, с содержимым лунки, так как перенос окрашенного раствора из лунки в лунку или резервуар с раствором может исказить результаты. Тщательно вытирают наружную нижнюю поверхность планшета.

15.6.6. Учёт реакции.

Результаты анализа учитывают инструментальным способом. Сразу после остановки реакции измеряют оптическую плотность (ОП) продуктов реакции в каждой лунке, используя спектрофотометр (ридер) для микропланшетов с вертикальным лучом света при длине волны 450 нм . Перед проведением измерений устанавливают «0» фотометра по воздуху.

15.7. Оценка результатов реакции.

15.7.1. Оценивают величины оптической плотности, полученные в реакциях с компонентами №№ 2 и 3 (контрольными сыворотками крови):

результаты считают достоверными, если величина оптической плотности, полученная в реакции с компонентом № 2 (ОП^+) $< 0,300$ оптических единиц (опт. ед.) и отношение между величинами ОП, полученными в реакциях с контрольными компонентами №№ 3 и 2 равно или больше 5: $\text{ОП}^-(\text{компонент } \text{№ } 3) / \text{ОП}^+(\text{компонент } \text{№ } 2) \geq 5$.

15.7.2. Если значения величин оптической плотности, полученные в реакциях с компонентами №№ 2 и 3, не соответствуют указанным критериям, результаты считаются недостоверными и исследование проводят повторно.

15.7.3. Если отношения величин оптической плотности, полученные в реакциях с компонентами №№ 2 и 3, соответствуют вышеуказанным критериям, то проводят оценку результатов реакций в лунках с испытуемыми пробами сыворотки.

15.7.4. Оценку результатов реакции испытуемых проб проводят по величине коэффициента (K), который рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{ОП_{отрицательного\ контроля} - ОП_{испытуемой\ сыворотки}}{ОП_{отрицательного\ контроля} - ОП_{положительного\ контроля}} \times 100\%$$

Реакцию считают отрицательной для образцов сывороток крови, значение K которых равно или меньше 30 %.

Реакцию считают положительной для образцов сыворотки крови, значение K которых равно или выше 50 %.

Реакцию считают сомнительной для образцов сыворотки крови, значение K которых больше 30 %, но меньше 50 %.

15.8. Диагностическая оценка результатов.

15.8.1. Животных, при положительном результате реакции, считают инфицированными *Brucella canis*.

15.8.2. Животных, при сомнительном результате реакции, исследуют повторно через 15 и 30 суток.

В случае получения при повторном исследовании через 30 суток сомнительного результата реакции при снижении величины коэффициента K , инфицирование животных *Brucella canis* исключают; при повышении величины коэффициента K , животных считают инфицированными *Brucella canis*.

15.8.3. Животных, исследованных первично с сомнительным результатом, до получения результатов, исключающих диагноз на бруцеллез, содержат изолированно.

16. Постановку иммуноферментного анализа проводят «in vitro» и исследование на организм животного влияния не оказывает.

17. Несоблюдение методики постановки реакции может привести к ошибочной интерпретации результатов.

18. Взаимодействия с другими лекарственными препаратами не может происходить, т.к. диагностикум не вступает в контакт с организмом животного.

Инструкция по применению набора разработана совместно со специалистами ФГБУ «ВГНКИ» (123022, РФ, г. Москва, Звенигородское шоссе, 5).

Наименование и адрес производственной площадки производителя лекарственного препарата для ветеринарного применения:

ФКП «Курская биофабрика», 305004, РФ, г. Курск, ул. Разина, 5.

Наименование и адрес организации, уполномоченной на принятие претензий от потребителя:

ФКП «Курская биофабрика», 305004, РФ, г. Курск, ул. Разина, 5.



ДЕКЛАРАЦИЯ О СООТВЕТСТВИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ КАЗЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ "КУРСКАЯ БИОФАБРИКА - ФИРМА "БИОК",
ФКП "КУРСКАЯ БИОФАБРИКА"

зарегистрирован Инспекция Федеральной налоговой службы по г.Курску 23.08.2002

ОГРН: 1024600940792, место нахождения: 305004, РОССИЯ, ОБЛАСТЬ КУРСКАЯ, ГОРОД
КУРСК, УЛИЦА РАЗИНА, 5, телефон: +7 4712700670, факс: +7 4712705426,
адрес электронной почты: ogt-blok@yandex.ru

В лице: заместителя директора по качеству Сверчкова Алексея Вадимовича, доверенность № 01
от 09.01.2019

заявляет, что Набор для выявления иммуноферментным методом собак и других плотоядных,
инфицированных *Brusella canis* - в виде набора компонентов для диагностических целей в
ветеринарии, код ОКПД2: 21.20.23.110, код ТН ВЭД: 3002909000

Документ, в соответствии с которым изготовлена продукция: СТО, номер: 00482909-059-2009

Серийный выпуск, Лицензия Россельхознадзора № 00-14-1-001993, от 27.03.2014

Изготовитель: ФЕДЕРАЛЬНОЕ КАЗЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ "КУРСКАЯ БИОФАБРИКА - ФИРМА
"БИОК", место нахождения: 305004, РОССИЯ, ОБЛАСТЬ КУРСКАЯ, ГОРОД КУРСК, УЛИЦА
РАЗИНА, 5,

Соответствует требованиям: НД №13-5-2/1062 «Ветеринарные препараты. Показатели
качества. Требования и нормы» утв. Минсельхозпродом России 17.10.1997 г.;

Декларация о соответствии принята на основании протокола 40 выдан 03.10.2018 испытательной
лабораторией ФКП "Курская биофабрика"; 41 выдан 03.10.2018 испытательной лабораторией ФКП "Курская
биофабрика", Сертификат системы менеджмента: РОСС RU.ИС11.К01282 выдан 06.09.2018, Орган по сертификации
систем менеджмента: ВНИИС-СЕРТ АО "ВНИИС", RA.RU.13ИС11.; схема декларирования: 1д

Дата принятия декларации

12.02.2019

Декларация о соответствии действительна до

11.02.2022



(подпись)

Сверчков Алексей Вадимович

инициалы, фамилия

Сведения о регистрации декларации о соответствии RA.RU.11CC07, Орган по сертификации
Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский государственный Центр качества
и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», 123022, РОССИЯ, город Москва, ш.
Звенигородское, дом 5, стр. 1

Регистрационный номер декларации о соответствии

РОСС RU Д-RU.CC07.B.00083/19

Дата регистрации

12.02.2019

КОПИЯ ВЕРНА
главного бухгалтера
"Курская биофабрика"
И.Н. Варфоломеева



М.П.

(подпись)

Алешкина Наталья Вячеславовна

инициалы, фамилия руководителя органа по сертификации