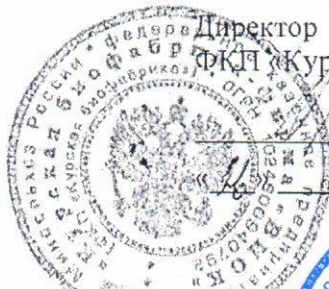


УТВЕРЖДАЮ

Директор
ФКП «Курская биофабрика»

В.М. Безгин

2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ



**по ветеринарному применению набора для диагностики бруцеллёза животных
иммуноферментным методом**

(Организация-разработчик: Федеральное казенное предприятие «Курская биофабрика – фирма «БИОК»
(ФКП «Курская биофабрика»), 305004, РФ, г. Курск, ул. Разина, 5)

I. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. Торговое наименование: Набор для диагностики бруцеллёза животных (крупного и мелкого рогатого скота) иммуноферментным методом.

Международное непатентованное наименование: Набор для диагностики бруцеллёза животных (крупного и мелкого рогатого скота) иммуноферментным методом.

2. В состав набора входят иммуноспецифические и химические компоненты:

компонент № 1 – полистироловый 96-луночный планшет для иммуноферментного анализа с иммобилизованным в лунках олигополисахаридным бруцеллезным антигеном (ОПС антигеном) – 2 шт.;

компонент № 2 – положительный контроль: сыворотка крови, содержащая бруцеллезные антитела, 0,2 см³ – 1 флакон;

компонент № 3 – отрицательный контроль: сыворотка крови, не содержащая бруцеллезных антител, 0,2 см³ – 1 флакон;

компонент № 4 – положительный контроль: молоко, содержащее бруцеллезные антитела, 1,0 см³ – 1 флакон;

компонент № 5 – отрицательный контроль: молоко, не содержащее бруцеллезных антител, 1,0 см³ – 1 флакон;

компонент № 6 – антивидовой конъюгат (моноклональные антитела к IgG крупного и мелкого рогатого скота, меченные пероксидазой), концентрированный, (рабочее разведение указывается для каждой серии), 0,5 см³ – 1 флакон;

компонент № 7 – концентрат (× 20) буферного раствора для разведения контрольных и испытуемых проб сывороток крови и конъюгата, 20,0 см³ – 1 флакон;

компонент № 8 – концентрат (× 20) промывочного буферного раствора, 20,0 см³ – 2 флакона;

компонент № 9 – раствор субстрата (H₂O₂), 22,0 см³ – 1 флакон;

компонент № 10 – раствор хромогена (ТМБ), 0,6 см³ – 1 флакон;

компонент № 11 – 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 ОПС антигеном;

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

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

компонент № 4 – жидкость белого цвета;

компонент № 5 – жидкость белого цвета;

компонент № 6 – жидкость розового цвета;

- компонент № 7 — жидкость красного цвета;
- компонент № 8 — прозрачная бесцветная жидкость;
- компонент № 9 — прозрачная бесцветная жидкость;
- компонент № 10 — прозрачная бесцветная жидкость;
- компонент № 11 — 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 завинчивающимися 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). Компоновка 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. Хранят набор в защищенном от света месте и 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 РЕАКЦИИ

9. Принцип непрямого варианта иммуноферментного анализа (ИФА) заключается в выявлении комплекса, образованного ОПС антигеном, иммобилизованным с использованием моноклональных антител на поверхности лунок полистиролового планшета, и специфическими антителами, содержащимися в пробах сыворотки крови или молоке крупного рогатого скота. Специфический комплекс взаимодействует с антивидовым конъюгатом моноклональных антител к IgG крупного и мелкого рогатого скота с пероксидазой и обнаруживается по изменению окраски раствора в результате химических превращений субстрата и хромогена. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации специфических антител в исследуемой пробе.

10. Набор является диагностическим препаратом для ветеринарного применения.

III ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

11. Набор предназначен для диагностики бруцелллёза крупного и мелкого рогатого скота, не иммунизированного бруцеллёзными вакцинами, иммунизированного неагглютиногенными (из штамма *B. abortus* KB17/100 или аналогичными) или слабоагглютиногенными бруцеллёзными вакцинами (из штаммов *B. abortus* 82, 75/79-AB или аналогичными), но не ранее чем через 6 месяцев после введения вакцины.

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 безо-

пасности 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. Материалом для исследования служат индивидуальные пробы сыворотки крови крупного и мелкого рогатого скота, молоко, молозиво и секрет вымени сухостойных коров.

Для исследования используют сыворотки крови крупного и мелкого рогатого скота без признаков гемолиза и бактериальной контаминации, объёмом не менее $0,5 \text{ см}^3$. Допускается хранение образцов сыворотки при температуре от 2°C до 8°C в течение 72 ч или при температуре не выше минус 20°C в течение 60 суток после их получения. Размораживать образцы сыворотки крови необходимо в водяной бане при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Не рекомендуется многократное замораживание и оттаивание образцов.

Пробы молока, молозива и секрета вымени сухостойных коров (объёмом не менее 5 см^3) обезжиривают путём центрифугирования в течение 15 мин при 2000-3000 об/мин, после расслоения на два слоя – верхний (жировой) и нижний (обезжиренный) – осторожно прокалывают верхний жировой слой и отбирают в отдельную пробирку около 1 см^3 жидкого нижнего слоя.

15.2. Для проведения ИФА требуются одно- и восьмиканальные пипетки переменного объёма до 0,01; 0,20; 1,0; 5,0 и $10,0 \text{ см}^3$ со сменными наконечниками, мерная лабораторная посуда, термостат с температурой нагрева $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, дистиллированная вода, бытовой холодильник, центрифуга, фильтровальная бумага, контейнер, система промывания планшетов, которая распределяет по $0,3 \text{ см}^3$ 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°C до 25°C . Сразу после проведения анализа неиспользованные компоненты убирают в холодильник с температурой от 2°C до 8°C .

15.4. Перед началом работы составляют план проведения исследования.

15.5. Подготовка рабочих растворов.

15.5.1. Промывочный буферный рабочий раствор. Компонент № 8 разбавляют дистиллированной водой в 20 раз и тщательно перемешивают (например, для получения 200 см^3 промывочного буферного рабочего раствора к 10 см^3 концентрата добавляют 190 см^3 дистиллированной воды).

15.5.2. Буферный рабочий раствор для разведения контрольных и испытуемых проб сывороток крови и конъюгата. Компонент № 7 разбавляют дистиллированной водой в 20 раз и тщательно перемешивают (например, для получения 50 см^3 буферного раствора к $2,5 \text{ см}^3$ концентрата добавляют $47,5 \text{ см}^3$ дистиллированной воды). После разведения буферный рабочий раствор можно хранить при температуре от 2°C до 8°C в течение 5 суток.

15.5.3. Рабочий раствор конъюгата. Компонент № 6 разбавляют буферным рабочим раствором для разведения контрольных и испытуемых проб сывороток крови и конъюгата согласно концентрации, указанной на этикетке. Например, имея 40-кратный концентрат, в расчёте на один планшет, к $0,25 \text{ см}^3$ компонента № 6 добавляют $10,0 \text{ см}^3$ буферного рабочего раствора. Рабочий раствор конъюгата хранить нельзя.

15.5.4. Субстратная смесь. Субстратную смесь изготавливают после завершения промывания лунок. Для приготовления 10 см^3 раствора субстратной смеси, необходимого для проведения реакции на одном планшете, смешивают $10,0 \text{ см}^3$ раствора компонента № 9 и $0,25 \text{ см}^3$ раствора компонента № 10. 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 №№ 4 и 5 (положительный и отрицательный контроли) и № 11 (останавливающий раствор) не требуют предварительной подготовки.

15.6. Постановка реакции.

15.6.1. Из комплекта набора берут пакет с компонентом № 1 (полистироловым 96-луночным планшетом для иммуноферментного анализа с адсорбированным в лунках ОПС 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 сохранить для дальнейшего использования, если немедленно заклеить их герметичной водонепроницаемой плёнкой. Компонент № 1 (планшет) используют однократно.

15.6.2. Внесение испытуемых проб

15.6.2.1. Наслаивание сывороток. Сыворотки крови животных исследуют в разведении 1:26 в буферном рабочем растворе для разведения контрольных и испытуемых проб сывороток крови и конъюгата. Все контрольные и испытуемые пробы сывороток разводят непосредственно в лунках планшета.

В лунки стрипов полистиролового планшета в соответствии с подготовленным планом исследования вносят по 0,1 см³ буферного рабочего раствора для разведения контрольных и испытуемых проб сывороток крови и конъюгата, подготовленного согласно п. 15.5.2.

Внесение контролей:

- в лунку А1 полистиролового планшета вносят 0,004 см³ компонента № 2 (положительного контроля);

- в лунку В1 полистиролового планшета вносят 0,004 см³ компонента № 3 (отрицательного контроля).

Внесение контролей в лунки А1 – В1 не обязательно, они могут быть внесены в другие лунки планшета.

В остальные лунки полистиролового планшета вносят по 0,004 см³ испытуемых проб сывороток крови.

Для внесения каждой пробы сыворотки крови используют новый наконечник.

Необходимо тщательное перемешивание сывороток в лунках.

15.6.2.2. Наслаивание молока. Пробы молока исследуют без разведения.

Внесение контролей:

- в лунку А1 полистиролового планшета вносят 0,1 см³ компонента № 4 (положительного контроля);

- в лунку В1 полистиролового планшета вносят 0,1 см³ компонента № 5 (отрицательного контроля).

Внесение контролей в лунки А1 – В1 не обязательно, они могут быть внесены в другие лунки планшета.

В остальные лунки полистиролового планшета вносят по 0,1 см³ испытуемых проб молока.

Для внесения каждой пробы молока используют новый наконечник.

Допускается проведение исследований сывороток крови, молока, молозива и секрета вымени сухостойных коров на одном планшете. В этом случае в лунки планшета вносят все четыре контроля (компоненты №№ 2 – 5).

Для повышения достоверности результатов рекомендуется внесение проб испытуемых сывороток или молока в двух повторностях.

15.6.3. Полистироловый планшет накрывают крышкой и инкубируют 1 ч ($\pm$ 5 мин) при температуре (37,0 $\pm$ 0,5) °С.

15.6.4. Промывание лунок планшетов.

Содержимое лунок полистиролового планшета удаляют, используя автоматические или ручные промывающие системы, в крайнем случае, допускается встряхивание. Все лунки планшета промывают 3 раза рабочим промывочным буферным рабочим раствором, подготовленным по п. 15.5.1 (по 0,3 см³ 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.

15.6.5. Внесение конъюгата

В каждую лунку планшета вносят по 0,1 см³ рабочего раствора конъюгата, подготовленного согласно п. 15.5.3. Планшет закрывают крышкой (или плёнкой) и инкубируют 1 ч ($\pm$ 5 мин) при температуре (37,0 $\pm$ 0,5) °С.

15.6.6. Промывание лунок планшета

Четырёхкратно проводят процедуру промывания лунок планшета, описанную в п. 15.6.4.

15.6.7. 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°C до 24°C в защищённом от прямых солнечных лучей месте от 2 мин до 10 мин до проявления ярко выраженного синего окрашивания в лунках с положительными контролями.

15.6.8. Остановка реакции.

В каждую используемую лунку полистиролового планшета вносят по $0,08 \text{ см}^3$ компонента № 11 (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.

15.6.9. 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 контрольными компонентами №№ 2 – 5:

результаты считают достоверными, если контрольные показатели соответствуют критериям:

– значение ОП, полученное в реакции с положительными контролями, $(\text{ОП}^+) \geq 0,500$ оптических единиц (опт. ед.) для компонента № 2 и для компонента № 4;

– значение ОП, полученное в реакции с отрицательными контролями, $(\text{ОП}^-) < 0,300$ опт. ед. для компонента № 3 и $< 0,250$ опт. ед. для компонента № 5;

– отношение между величинами, полученными в реакциях с положительными (ОП^+) и отрицательными контролями

равно или больше 3 для сывороток крови: $\text{ОП}^+ (\text{компонента № 2}) / \text{ОП}^- (\text{компонента № 3}) \geq 3,0$ и

равно или больше 5 для молока: $\text{ОП}^+ (\text{компонента № 4}) / \text{ОП}^- (\text{компонента № 5}) \geq 5,0$.

15.7.2. Если значения величин оптической плотности, полученные в реакциях с компонентами №№ 2 – 5, 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 – 5, соответствуют вышеуказанным критериям, то проводят оценку результатов реакций в лунках с испытуемыми пробами.

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

$$K = \frac{\text{ОП}_{\text{испытуемой пробы}}}{\text{ОП}^-}$$

Реакцию считают **положительной** для проб сыворотки крови или молока, если значение $K \geq 2,5$.

Реакцию считают **отрицательной** для проб сыворотки крови или молока, если значение $K < 2,5$.

15.8. Интерпретация результатов

15.8.1. При выявлении в благополучных по бруцеллёзу стадах крупного рогатого скота, не иммунизированного против бруцеллёза или иммунизированного неагглютинирующими бруцеллёзными вакцинами, или не ранее чем через 8 месяцев после иммунизации слабоагглютинирующими бруцеллёзными вакцинами, животных, исследованных с положительным результатом, считают больными бруцеллёзом.

При сомнительном результате иммуноферментного анализа пробы сыворотки крови от этих животных исследуют повторно через 30 суток. При сохранении коэффициента активности сыворотки на прежнем уровне проводят ещё одно исследование через 30 суток. В случае сохранения коэффициента активности сыворотки на исходном уровне или его снижения заболевание животных бруцеллёзом исключают. При повышении коэффициента активности сыворотки в любом из повторных исследований заболевание животных бруцеллёзом считают установленным.

15.8.2. При выявлении в неблагополучных по бруцеллёзу стадах крупного рогатого скота, не иммунизированного против бруцеллёза или иммунизированного неагглютиногенными бруцеллёзными вакцинами, или не ранее чем через 8 месяцев после иммунизации слабоагглютиногенными бруцеллёзными вакцинами, животных, исследованных с положительным или сомнительным результатом, считают больными бруцеллёзом.

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.

19. При получении отрицательных результатов продукцию убоя животных используют в соответствии с действующими ветеринарно-санитарными правилами.

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-biok@yandex.ru

В лице: Заместителя директора по качеству Сверчкова Алексея Вадимовича,
доверенность № 1 от 09.01.2019

заявляет, что Набор для диагностики бруцеллеза животных иммуноферментным методом –
в виде набора компонентов для диагностических целей в ветеринарии
код ОКПД2: 21.10.60.196

Сертификат соответствия требованиям ГОСТ Р 52249-2009 (GMP), регистрационный № ОСМ
RU.04-С 21-149 от 21.12.2018; лицензия Россельхознадзора № 00-14-1-001993 от 27.03.2014
Документ, в соответствии с которым изготовлена продукция: СТО 00482909-131-2018 от
22.01.2019

Серийный выпуск

Изготовитель: ФЕДЕРАЛЬНОЕ КАЗЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ "КУРСКАЯ БИОФАБРИКА -
ФИРМА "БИОК", место нахождения: 305004, РОССИЯ, ОБЛАСТЬ КУРСКАЯ, ГОРОД КУРСК,
УЛИЦА РАЗИНА, 5, Адрес места осуществления деятельности по изготовлению продукции:
305004, РОССИЯ, Курская обл., г. Курск, ул. Разина, дом 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 № 25 выдан 24.10.2019
испытательной лабораторией ОБТК ФКП "Курская биофабрика"; № 24 выдан 24.10.2019
испытательной лабораторией ОБТК ФКП "Курская биофабрика"; схема декларирования: 1д

Дата принятия декларации

04.12.2019

Декларация о соответствии действительна до

03.12.2022



(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.00180/19

Дата регистрации

04.12.2019



(подпись)

Богданова Мария Сергеевна
инициалы, фамилия руководителя органа по сертификации

