НАУЧНО–ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF **Н-351** **96**

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G»

Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к капсидному антигену (VCA) вируса Эпштейна-Барр, набор диагностический

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

Содержание

I. Назначение 3
II. Состав набора 3
III. Аналитические и диагностические характеристики набора 4
IV. Меры предосторожности 5
V. Инструкции по безопасности 6
VI. Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов 7
VII. Отбор и подготовка образцов 8
VIII. Подготовка реагентов 8
IX. Проведение анализа 9
X. Учет результатов 10
XI. Срок годности. Условия хранения и транспортирования 11
XII. Объяснение символов 12

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

Набор реагентов выпускается в 1 комплекте:
Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного использования набора до одной лунки.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G» – тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к капсидному антигену (VCA) вируса Эпштейна-Барр в сыворотке (плазме) крови человека с целью специфической диагностики инфекции.

II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент – планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки), в лунках которого сорбированы рекомбинантные капсидные антигены вируса Эпштейна-Барр.	1 планшет
Конъюгат (концентрат х 21) – моноклональные антитела мыши против иммуноглобулина G человека, меченные пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	1 флакон 1,0 мл
К+ (контрольный положительный образец) – сыворотка крови человека, содержащая антитела класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр, не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая малиново-красного цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
К- (контрольный отрицательный образец) – сыворотка крови человека, не содержащая антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр, не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость.	1 флакон 3,0 мл
РРК – раствор для разведения конъюгата – при температуре от 2 до 8 °С – прозрачная жидкость желтого цвета, при температуре от 18 до 24 °С становится опалесцирующей.	1 флакон 13,5 мл
БР – блок-раствор – для разведения исследуемых образцов. Прозрачная или слегка опалесцирующая сине-фиолетового цвета жидкость.	1 флакон 12,5 мл

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

ПР – промывочный раствор (концентрат х 25). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл
СБ – субстратный буферный раствор, содержащий лимонную кислоту, ацетат натрия, раствор перекиси водорода. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 15,0 мл
ТМБ – раствор, содержащий 3,3′,5,5′-тетраметилбензидиндегидрохлорид. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 1,5 мл
Стоп-реагент – раствор серной кислоты 0,75 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл

Набор комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению.

Дополнительно набор может быть укомплектован	Крышка к полистироловым 96-луночным планшетам или	1 шт.
	защитная пленка для ИФА планшетов	2 шт.
	Одноразовые наконечники	16 шт.
	Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт.
	Полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или пластиковая скрепка	1 шт.

III. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Оценка чувствительности и специфичности теста проводилась по панели «Anti-EBV Mixed Titer Performance Panel» PME 201, BBI. Чувствительность теста составила 95%, специфичность – 100%.

Оценка диагностической чувствительности и специфичности теста проводилась на клинических образцах в сравнении с референс тест-системами, предназначенными для выявления антител класса IgG к капсидному антигену (VCA) вируса Эпштейна-Барр. Чувствительность теста составила 99%, специфичность – 95%.

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

IV. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме реагентов, входящих в состав тест-систем для диагностики ToRCH-инфекций:
  - неспецифических компонентов (ПР (концентрат х 25), СБ), которые взаимозаменяемы во всех тест-системах производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
  - стоп-реагента, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора (0,75 моль/л или 0,2 моль/л).

  Внимание! Молярность стоп-реагента указана в разделе «Состав набора».

  Другие реагенты также могут быть взаимозаменяемыми для постановки в большинстве тест-систем производства ООО «НПО «Диагностические системы». За более детальной информацией обратитесь в нашу службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7647, 7655) или по E-mail: info@npods.ru.
- Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Перед использованием все реагенты набора выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
- Растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить ферментную реакцию в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на активность конъюгатов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многоразовые ванночки для автоматических анализаторов необходимо сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной. Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной.
- Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).
- Ферментная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстрата.
- Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.

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

- Промывка лунок – важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполняются, не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.
- Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

V. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении К-, были протестированы и определены нереактивными в отношении антител класса IgG к капсидному антигену (VCA) вируса Эпштейна-Барр, поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к вирусу гепатита С и вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1,2.
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении К+, были протестированы и определены нереактивными в отношении поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к ВИЧ-1,2 и к вирусу гепатита С.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т. к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Необходимо избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы. При расплескивании немедленно дезактивировать поверхность 3% раствором хлорамина Б.
- Необходимо избегать контакта субстратного буфера, ТМБ, стоп-реагента с кожей и слизистыми.

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

- После проведения ферментной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы, до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т. д.) должны быть обеззаражены погружением в 6% раствор перекиси водорода с 0,5% синтетического моющего средства или в 3% раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации – не менее 1 ч. Допустимо применение другого разрешенного к применению дез. средства. Твёрдые отходы также следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГ/см^2 (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезактивации – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГ/см^2 (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.
-  Некоторые реагенты содержат 0,05% проклин 300. Проклин 300 0,05% - раздражающее вещество. Может вызвать сенсибилизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

VI. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная.
- Автоматические или полуавтоматические, регулируемые или предварительно устанавливаемые одноканальные или многоканальные пипетки с изменяемым объемом для отбора жидкостей.
- Одноразовые наконечники к пипеткам.
- Инкубатор микропланшетный (37,0 ± 0,5) °С.
- Автоматический микропланшетный вошер.
- Градуированные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.
- Микропланшетный ридер с возможностью измерения оптической плотности (ОП) при фильтрах 450 нм и 620-680 нм.

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

VII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы **термоинактивированию**, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. **Каждый образец сыворотки следует отбирать новым наконечником!** Отобранные образцы хранить не более 3-х суток при температуре от 2 до 8 °С. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °С (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Образцы с выраженным бактериальным ростом, гемолизом и гиперлипидемией могут дать неправильный результат. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо «осветлять» центрифугированием.

VIII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты, готовые к применению:

- **К-** – контрольный отрицательный образец;
- **К+** – контрольный положительный образец;
- **РРК** – раствор для разведения конъюгата;
- **БР** – блокирующий раствор для разведения исследуемых образцов;
- **Стоп-реагент**.

2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

Иммуносорбент. Каждый планшет, состоящий из 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет и вынуть планшет. Взять необходимое количество стрипов. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край фольгированного пакета свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 6 мес. при температуре от 2 до 8 °С.

Рабочий промывочный раствор (ПР). Содержимое флакона с концентратом (х 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата промывочного раствора развести соответствующим объемом воды дистиллированной (см. табл. 2). Полученный раствор тщательно перемешать. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут. при температуре от 18 до 24 °С или 28 сут. при температуре от 2 до 8 °С.

Рабочий раствор конъюгата. Необходимое количество РРК перенести в чистый флакон, добавить соответствующее количество концентрата конъюгата (х 21) (см. табл. 2) и осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Хранить не более 12 часов в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

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

Субстратная смесь (СС). Развести необходимый объем ТМБ соответствующим объемом СБ (см. табл. 2). Тщательно перемешать до полного растворения. Субстратную смесь готовить перед использованием. Хранить не более 10 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С в чистых флаконах.

Субстратная смесь должна быть бесцветной!

После вскрытия флаконов и пакета с иммуносорбентом оставшиеся не использованными реагенты: иммуносорбент – хранить не более 6 мес., конъюгат (концентрат х 21), К+, К-, РРК, БР, ПР (концентрат х 25), СБ, ТМБ, стоп-реагент хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

IX. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Примечание: Перед использованием все реагенты набора выдержать в течение 30 мин при температуре от 18 до 24 °С.

Необходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых стрипов или планшета представлены в таблице 2.

Таблица 2

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 21) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
1	4	96	0,05	1,0	1,0	0,05
2	8	192	0,10	2,0	2,0	0,10
3	12	288	0,15	3,0	3,0	0,15
4	16	384	0,20	4,0	4,0	0,20
5	20	480	0,25	5,0	5,0	0,25
6	24	576	0,30	6,0	6,0	0,30
7	28	672	0,35	7,0	7,0	0,35
8	32	768	0,40	8,0	8,0	0,40
9	36	864	0,45	9,0	9,0	0,45
10	40	960	0,50	10,0	10,0	0,50
11	44	1056	0,55	11,0	11,0	0,55
12	48	1152	0,60	12,0	12,0	0,60

1. Перед использованием планшет промыть 2 раза рабочим ПР: осторожно внести рабочий ПР в лунки планшета с помощью промывочного устройства до краёв лунок (не менее 380 мкл в лунку), выдержать 40 с, затем удалить промывочный раствор в ёмкость с дезинфицирующим раствором. Рекомендуется использование автоматического микропланшетного вошера. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.

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

2. Контрольные образцы рекомендуется вносить по следующей схеме в зависимости от количества используемых стрипов:

1 стрип –1 лунка – 100 мкл К+, 2 лунки по 100 мкл К-;

2 стрипа – 2 лунки по 100 мкл К+, 2 лунки по 100 мкл К-;

3 стрипа и более – 2 лунки по 100 мкл К+, 3 лунки по 100 мкл К-.

В лунки стрипа, например, А-1 и В-1 внести по 100 мкл К+, в 3 лунки С-1, D-1, Е-1 – по 100 мкл К-. В остальные лунки иммуносорбента внести по 90 мкл блок-раствора, затем по 10 мкл образцов исследуемых сывороток (разведение сывороток 1:10).

3. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным пипетированием, при этом фиолетово-синий цвет должен измениться на голубовато-зеленый. Если изменение цвета не произошло, значит, сыворотка не внесена. Стрипы закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать 30 мин при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

4. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дез. раствором, с помощью промывочного устройства, планшет промыть 4 раза рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер, как указано в п. 1.

5. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 30 мин при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

6. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дез. раствором, с помощью промывочного устройства, планшет промыть 4 раза рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер, как указано в п. 1.

7. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл СС и планшет выдержать в течение 20 мин в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

8. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 50 мкл стоп-реагента и через 3-4 минуты провести учет результатов при основном фильтре 450 нм и референс-фильтре 620-680 нм, используя ридер. Допустим учет результатов при одной длине волны 450 нм.

X. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Реакцию следует учитывать, если средние значения оптической плотности (ОП) в лунках с К+ не ниже 0,6, а среднее значение К- не более 0,150.

Положительным считать образец со значением ОП равным или превышающим ОП критическое ($ОП_{крит}$).

Отрицательным считать образец со значением ОП менее $ОП_{крит}$.

$ОП_{крит}$. рассчитывать по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит.} = ср.знач.\ ОП\ (К\text{-}) + А \quad (А=0{,}150),}$$

где **А** – коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов постановки ИФА на предприятии-изготовителе.

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

Интерпретация результатов

Результаты постановки тест-системы оценивают с помощью таблицы 3. Однако для более точной постановки диагноза необходимо также руководствоваться клиническими данными.

Таблица 3

Интерпретация результатов постановки тест-системы

	Низкоавидные антитела	VCA-IgG*	VCA-IgM	EA-IgG	NA-IgG
Инкубационный период или отсутствие инфицирования	–	–	–	–	–
Первичная инфекция	+	+	+/–	–	–
Острая первичная инфекция (инфекционный мононуклеоз)	+	+	+	+	–
Поздняя первичная инфекция	–	+	+/– (≤ 0,3)	+	+/–
Атипичная первичная инфекция	–	+	+	–	–
Хроническая инфекция	–	+	+/–	+	–
Ранняя паст-инфекция (реконваленсценция)	–	+	–	+	+
Поздняя паст-инфекция (латентная инфекция у клинически здоровых людей)	–	+	–	–	+
Реактивация	–	+	+	+	+

* у детей до 7-8 лет IgG к VCA могут не выявляться.

XI. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности – 24 месяца. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Хранение – в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование – при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование от 9 до 20 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя – ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» Россия, 603093, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

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

XII. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

CE	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
IVD	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
LOT	Номер партии (серии)
REF	Каталожный номер
Σ	Количество определений
+2°C +8°C	Температурные пределы хранения
	Используйте инструкцию по применению
EXP.	Срок годности дата/месяц/год
Xi	Содержит раздражающее вещество

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования».

– Изготовитель, символ 5.1.1;

– Дата изготовления (YYYY-MM), символ 5.1.3;

– Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD), символ 5.1.4 (взамен символа EXP.);

– Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;

– Беречь от влаги, символ 5.3.4;

– Внимание, символ 5.4.4;

Xi – Содержит раздражающее вещество (символ исключен).

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