НАУЧНО–ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF **Н-353** Σ **96**

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-М»

Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgM 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. Меры предосторожности 4
IV. Инструкции по безопасности 5
V. Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов 6
VI. Отбор и подготовка образцов 7
VII. Подготовка реагентов 7
VIII. Проведение анализа 8
IX. Учет результатов 9
X. Срок годности. Условия хранения и транспортирования 11
XI. Объяснение символов на внутренней упаковке 11

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

Набор реагентов выпускается в одном комплекте.
Набор рассчитан на проведение 96 (8 х 12) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного использования набора.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-М» – тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgM 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-М»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент – полистироловый разборный 96-луночный планшет с прозрачными бесцветными лунками, в которых сорбированы рекомбинантные капсидные антигены вируса Эпштейна-Барр.	1 планшет
Конъюгат (концентрат х 21) – моноклональные антитела мыши против иммуноглобулина М 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 IgM 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 класса IgM 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. Прозрачная или слегка опалесцирующая желтого цвета жидкость.	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

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. 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.
- 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.

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

- 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.
- 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.

IV. 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 IgM 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.

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

- Необходимо избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы. При расплескивании немедленно дезинфицировать поверхность 3% раствором хлорамина Б.
- Необходимо избегать контакта субстратного буфера, ТМБ, стоп-реагента с кожей и слизистыми.
- 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 обеззараживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГс/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 минут, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГс/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.

V. 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

VI. 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.

VII. 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 (концентрат 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 (концентрат х 21) (см. табл. 2) и осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Рабочий раствор конъюгата стабилен не более 12 ч 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. Допустимо хранение СС не более 10 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.
Субстратная смесь должна быть бесцветной!

3. Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия флаконов и пакета с иммуносорбентом оставшиеся не использованными реагенты: конъюгат (концентрат х 21), контрольный положительный образец (К+), контрольный отрицательный образец (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, иммуносорбент после вскрытия пакета можно хранить в течение 6 мес. при температуре от 2 до 8 °С.

VIII. 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

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

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.

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.

IX. 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 0,200.

Положительным считать образец со значением ОП равным или превышающим ОП критическое (ОП крит).

Отрицательным считать образец со значением ОП менее ОП крит.

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

ОП крит. рассчитывать по формуле:

ОП крит. = ср. знач. ОП (К-) + А (А=0,200),

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

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.

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

X. 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.

XI. 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)
+2°C +8°C	Температурные пределы хранения
EXP.	Срок годности год/месяц/дата
Xi	Содержит раздражающее вещество

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

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;

 – Обратитесь к инструкции по применению, символ 5.4.3;

 – Внимание, символ 5.4.4;

 – Содержимого достаточно для проведения *n*-количества тестов (количество определений), символ 5.5.5;

 – Содержит раздражающее вещество (символ исключен).