«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____М.Д. Хусаинов

«___» _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С

«Бест анти-ВГС»

(комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Бест анти-ВГС» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека и препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа. Рекомендуется для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

1.2. Комплект 1 набора рассчитан на проведение 192 (2x96) анализов, включая контроли (по 4 лунки на каждом планшете). Набор предназначен для ручной постановки анализа. Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации смесь перокси-дазных конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека связывается с антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с

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

раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– планшет цельный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами вируса гепатита С, готовый для использования – 2 шт.;

– положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– отрицательный контрольный образец ($К^–$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), концентрат – 2 флакона (по 1,5 мл);

– раствор для разведения конъюгата (РК) – 2 флакона (по 13 мл);

– раствор для разведения сывороток (РС) – 2 флакона (по 10 мл);

– 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 флакона (по 28 мл);

– тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 флакон (1,5 мл);

– субстратный буферный раствор (СБР) – 2 флакона (по 13 мл);

– стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (21 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

– пленками для заклеивания планшета – 4 шт.,

– ванночками для реагента – 2 шт.,

– наконечниками для пипеток – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587) – 100%.

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

3.2. Специфичность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587 – 100%).

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 250 образцах сывороток и плазм крови больных гепатитом С в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 294 образцах сывороток и плазм крови условно здоровых доноров крови, больных гепатитом В в острой и хронической формах, ВИЧ-инфицированных пациентов, больных гепатитом А и другими инфекционными, и неинфекционными заболеваниями показали 100% специфичность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках;
- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98;
- утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивания при 500-800 об/мин и температуре (37±1) °С;

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

– холодильник бытовой;

– пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;

– пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей до 350 мкл;

– промывочное устройство для планшета;

– перчатки хирургические;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие растворы.

Примечание:

При использовании автоматических анализаторов рекомендуется связаться с изготовителем набора реагентов с целью получения возможной дополнительной информации от службы технической поддержки.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные образцы сыворотки (плазмы) или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови, за исключением препаратов иммуноглобулинов, исследовать неразведенными. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием разводить в 10 раз дистиллированной водой.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. *Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25)°С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

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

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре от 2 до 8 °С, использовать в течение всего срока годности.

Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор ТМБ.

При промывке лунки стрипа *(планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять вошер на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему вошера с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Тх25; СБР; стоп-реагент, концентрат ТМБ*), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.

При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

Посуду (ванночки), используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду (ванночки) промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.

Посуду (ванночки), используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов

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

7.2.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Тх25. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °С до полного растворения осадка.

В мерный цилиндр вместимостью 1000 мл внести 28 мл (содержимое одного флакона) 25-кратного фосфатно-солевого буферного раствора с твином, довести объем до 700 мл дистиллированной водой. Тщательно перемешать.

Хранение: Промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре от 18 до 25 °С не более 7 дней. После вскрытия флакона ФСБ-Т×25 хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.2. Контрольные образцы

Контрольные образцы $К^+$ и $К^-$ готовы к использованию.

Хранение: После вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием.*

Тщательно взболтать содержимое флаконов с раствором для разведения конъюгата (РК) и концентратом конъюгата.

Во флакон с РК внести 1300 мкл концентрата конъюгата. Раствор конъюгата в рабочем разведении должен иметь равномерное окрашивание.

Хранение: Раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре от 18 до 25 °С. После вскрытия флаконов концентрат конъюгата хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.4. Приготовление раствора тетраметилбензидина в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с ТМБ рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием.*

Во флакон с СБР внести 650 мкл концентрата тетраметилбензидина.

Хранение: Раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С. После вскрытия флакона концентрат ТМБ хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: После вскрытия флакона хранить стоп-реагент при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

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

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1.).

Все растворы должны быть комнатной температуры (18-25) °С.

7.3.2. Во все лунки планшета внести по 60 мкл раствора для разведения сывороток (РС). В 2 лунки планшета внести по 40 мкл положительного контрольного образца ($К^+$), в 2 лунки – по 40 мкл отрицательного контрольного образца ($К^-$), в остальные лунки – по 40 мкл испытуемых образцов.

Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

Примечание: При смешивании РС с исследуемым образцом (контролями) происходит изменение цвета раствора в лунке планшета. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться.

Примечание: Возможен контроль внесения образцов (контролей) в лунки с РС с помощью спектрофотометра, при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих РС и исследуемый образец должна быть больше 0,400 о.е.

7.3.3. Планшет заклеить липкой пленкой и инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

процедура 1 – 30 мин при температуре (37±1) °С, шейкер (500 об/мин);

процедура 2 – 1 час при температуре (37±1) °С, термостат.

7.3.4. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.1), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа.

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл рабочего промывочного раствора в режиме *«overflow»* – избыточной промывки). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

По окончании промывки необходимо использовать перекрестную аспирацию раствора из лунок (режим *«cross aspiration»*).

Если остаточный объём промывочного раствора в лунках превышает 10 мкл, то необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.5. Приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.3).

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

В каждую лунку внести по 100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении. Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Примечание: Возможен контроль внесения в лунки планшета раствора конъюгата в рабочем разведении с помощью спектрофотометра, при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат должна быть больше 0,120 о.е.

Планшет заклеить липкой пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре (37±1) °С.

7.3.6. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз промывочным раствором и удалить влагу как описано выше (п. 7.3.4.).

7.3.7. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.4.).

Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении. Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Планшет инкубировать 30 мин при температуре (18–25) °С в защищенном от света месте.

7.3.8. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (ОП).

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, рефренс-фильтр в диапазоне 620-650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП $К^-$) не более 0,2;

– значения оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом (ОП $К^+$) не менее 0,8.

По результатам ИФА рассчитать критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}К^- + 0{,}2,}$$

где $ОП_{ср}К^-$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

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

Для каждого исследуемого образца рассчитать коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$\mathbf{КП = ОП}_{\textit{иссл. обр.}}\mathbf{/ОП}_{\textit{крит}},$$

где $ОП_{иссл.\ обр}$ – оптическая плотность в лунках с исследуемыми образцами.

Если ОП К- и $ОП_{иссл.\ обр}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Исследуемый образец расценивают как отрицательный, если соответствующее ему значение КП меньше 1 (КП<1).

Исследуемый образец расценивают как положительный, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 (КП ≥ 1).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 ºС. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 ºС. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

– положительный и отрицательный контрольные образцы, концентрат конъюгата, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, СБР, концентрат ТМБ, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 ºС в течение всего срока годности набора;

– промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора **«Бест анти-ВГС»,** обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____М.Д. Хусаинов

«___» _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С

«Бест анти-ВГС»

(комплект 2)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Бест анти-ВГС» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека и препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа. Рекомендуется для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

1.2. Комплект 2 набора рассчитан на проведение 96 (12x8) анализов, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Набор предназначен для ручной постановки анализа (предусмотрено дробное использование набора по одному стрипу). Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации смесь перокси-

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

дазных конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека связывается с антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами вируса гепатита С, готовый для использования – 1 шт.;

– положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– отрицательный контрольный образец ($К^-$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), концентрат – 1 флакон (1,5 мл);

– раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 флакон (13 мл);

– раствор для разведения сывороток (РС) – 1 флакон (10 мл);

– 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);

– тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 флакон (1,5 мл);

– субстратный буферный раствор (СБР) – 1 флакон (13 мл);

– стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

– пленками для заклеивания планшета – 3 шт.,

– ванночками для реагента – 2 шт.,

– наконечниками для пипеток – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС требованиям

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

стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587) – 100%.

3.2. Специфичность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и М к ВГС требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587 – 100%).

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 250 образцах сывороток и плазм крови больных гепатитом С в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 294 образцах сывороток и плазм крови условно здоровых доноров крови, больных гепатитом В в острой и хронической формах, ВИЧ-инфицированных пациентов, больных гепатитом А и другими инфекционными, и неинфекционными заболеваниями показали 100% специфичность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках;
- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98.
- утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

– спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 650 нм;

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

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивания при 500-800 об/мин и температуре (37±1) °С;

– холодильник бытовой;

– пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;

– пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей до 350 мкл;

– промывочное устройство для планшета;

– перчатки хирургические;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие растворы.

Примечание:

При использовании автоматических анализаторов рекомендуется связаться с изготовителем набора реагентов с целью получения возможной дополнительной информации от службы технической поддержки.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные образцы сыворотки (плазмы) или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови, за исключением препаратов иммуноглобулинов, исследовать неразведенными. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием разводить в 10 раз дистиллированной водой.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. *Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

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

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25) °С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре от 2 до 8 °С, использовать в течение всего срока годности.

Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор ТМБ.

При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять вошер на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему вошера с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Тх25; СБР; стоп-реагент, концентрат ТМБ*), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.

При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

Посуду (ванночки), используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду (ванночки) промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.

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

Посуду (ванночки), используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов

7.2.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Тх25. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °С до полного растворения осадка.

В соответствии с используемым количеством стрипов необходимый объём ФСБ-Тх25 развести соответствующим объемом дистиллированной воды (см таблицу). Тщательно перемешать.

Хранение: Промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней. После вскрытия флакона ФСБ-Т×25 хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	флакон
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 700
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат, концентрат мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1300
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	флакон
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ, концентрат мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	650
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	флакон

7.2.2. Контрольные образцы

Контрольные образцы $К^+$ и $К^-$ готовы к использованию.

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

Хранение: После вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием.*

Тщательно взболтать содержимое флаконов с раствором для разведения конъюгата (РК) и концентратом конъюгата.

В ванночку для реагентов отобрать необходимое количество РК (см. таблицу), добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать пипетированием. Раствор конъюгата в рабочем разведении должен иметь равномерное окрашивание.

Хранение: Раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С. После вскрытия флакона концентрат конъюгата хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.4. Приготовление раствора тетраметилбензидина в рабочем разведении.

Внимание! *Для работы с ТМБ рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием.*

В ванночку для реагентов отобрать необходимое количество СБР (см. таблицу), добавить соответствующее количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

Хранение: Раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С. После вскрытия флакона концентрат ТМБ хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: После вскрытия флакона стоп-реагент хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранят при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1.).

Все растворы должны быть комнатной температуры (18- 25) °С.

7.3.2. Во все лунки стрипов внести по 60 мкл раствора для разведения сывороток (РС). В 2 лунки планшета внести по 40 мкл положительного контрольного образца ($К^+$), в 2 лунки – по 40 мкл отрицательного контрольного образца ($К^-$), в остальные лунки – по 40 мкл испытуемых образцов.

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

Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

Примечание: При смешивании РС с исследуемым образцом (контролями) происходит изменение цвета раствора в лунке планшета. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться.

Примечание: Возможен контроль внесения образцов (контролей) в лунки с РС с помощью спектрофотометра, при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих РС и исследуемый образец должна быть больше 0,400 о.е.

7.3.3. Стрипы заклеить липкой пленкой и инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

процедура 1 – 30 мин при температуре (37±1) °С, шейкер (500 об./мин);

процедура 2 – 1 час при температуре (37±1) °С, термостат.

7.3.4. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.1), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа.

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл рабочего промывочного раствора в режиме *«overflow»* – избыточной промывки). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

По окончании промывки необходимо использовать перекрестную аспирацию раствора из лунок (режим *«cross aspiration»*).

Если остаточный объём промывочного раствора в лунках превышает 10 мкл, то необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.5. Приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.3).

В каждую лунку внести по 100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении. Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Примечание: Возможен контроль внесения в лунки планшета раствора конъюгата в рабочем разведении с помощью спектрофотометра, при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат должна быть больше 0,120 о.е.

Стрипы заклеить липкой пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре (37±1) °С.

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

7.3.6. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз промывочным раствором и удалить влагу как описано выше (п. 7.3.4.).

7.3.7. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.4.).

Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении. Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Планшет инкубировать 30 мин при температуре (18–25) °С в защищенном от света месте.

7.3.8. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (ОП).

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, рефренс-фильтр в диапазоне 620-650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП $К^-$) не более 0,2;

– значения оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом (ОП $К^+$) не менее 0,8.

По результатам ИФА рассчитать критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}К^- + 0,2,$$

где $ОП_{ср}К^-$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Для каждого исследуемого образца рассчитать коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$\mathbf{КП = ОП}_{\textit{иссл. обр.}}\mathbf{/ОП}_{\textit{крит}},$$

где $ОП_{иссл.\ обр}$ – оптическая плотность в лунках с исследуемыми образцами.

Если ОП К- и $ОП_{иссл.\ обр}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

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

Исследуемый образец расценивают как отрицательный, если соответствующее ему значение КП меньше 1 (КП<1).

Исследуемый образец расценивают как положительный, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 (КП ≥ 1).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 ºС. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 ºС. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8 ºС в течение всего срока годности набора;

– положительный и отрицательный контрольные образцы, концентрат конъюгата, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, СБР, концентрат ТМБ, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 ºС в течение всего срока годности набора;

– промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют

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

нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «**Бест анти-ВГС**», обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____М.Д. Хусаинов

«___» _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С

«Бест анти-ВГС»

(комплект 3)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Бест анти-ВГС» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека и препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа. Рекомендуется для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

1.2. Комплект 3 набора рассчитан на проведение 192 анализов, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Набор предназначен для ручной постановки анализа (предусмотрено дробное использование набора: 12 независимых постановок). Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации смесь перокси-

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

дазных конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека связывается с антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами вируса гепатита С, готовый для использования – 2 шт.;

– положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– отрицательный контрольный образец ($К^–$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), концентрат – 2 флакона (по 1,5 мл);

– раствор для разведения конъюгата (РК) – 2 флакона (по 13 мл);

– раствор для разведения сывороток (РС) – 2 флакона (по 10 мл);

– 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 флакона (по 28 мл);

– тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 флакон (1,5 мл);

– субстратный буферный раствор (СБР) – 2 флакона (по 13 мл);

– стоп-реагент; готовый для использования – 1 флакон (21 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

– пленками для заклеивания планшета – 4 шт.,

– ванночками для реагента – 2 шт.,

– наконечниками для пипеток – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС требованиям

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

стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587) – 100%.

3.2. Специфичность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и М к ВГС требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587 – 100%).

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 250 образцах сывороток и плазм крови больных гепатитом С в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 294 отрицательных образцах сывороток и плазм крови условно здоровых доноров крови, больных гепатитом В и ВИЧ-инфицированных пациентов, показали 100% специфичность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках;
- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98.
- утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 650 нм;

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

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивания при 500-800 об/мин и температуре (37±1) °С;

– холодильник бытовой;

– пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;

– пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей до 350 мкл;

– промывочное устройство для планшета;

– перчатки хирургические;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие растворы.

Примечание:

При использовании автоматических анализаторов рекомендуется связаться с изготовителем набора реагентов с целью получения возможной дополнительной информации от службы технической поддержки.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные образцы сыворотки (плазмы) или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови, за исключением препаратов иммуноглобулинов, исследовать неразведенными. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием разводить в 10 раз дистиллированной водой.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. *Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

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

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25)° С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре от 2 до 8 °С, использовать в течение всего срока годности.

Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор ТМБ.

При промывке лунки стрипа *(планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять вошер на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему вошера с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Тх25; СБР; стоп-реагент; концентрат ТМБ*), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.

При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

Посуду (ванночки), используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду (ванночки) промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.

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

Посуду (ванночки), используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов

7.2.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Тх25. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °С до полного растворения осадка.

В соответствии с используемым количеством стрипов необходимый объём ФСБ-Тх25 развести соответствующим объемом дистиллированной воды (см. таблицу). Тщательно перемешать.

Хранение: Промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре от 18 до 25 °С не более 7 дней. После вскрытия флакона ФСБ-Т×25 хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	флакон
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 700
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат, концентрат мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1300
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	флакон
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ, концентрат мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	650
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	флакон

7.2.2. Контрольные образцы

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

Контрольные образцы $К^+$ и $К^-$ готовы к использованию.

Хранение: После вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием*

Тщательно взболтать содержимое флаконов с раствором для разведения конъюгата (РК) и концентратом конъюгата.

В ванночку для реагентов отобрать необходимое количество РК (см. таблицу), добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать пипетированием. Раствор конъюгата в рабочем разведении должен иметь равномерное окрашивание.

Хранение: Раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре от 18 до 25 °С. После вскрытия флакона концентрат конъюгата хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.4. Приготовление раствора тетраметилбензидина в рабочем разведении.

Внимание! *Для работы с ТМБ рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием.*

В ванночку для реагентов отобрать необходимое количество СБР (см. таблицу), добавить соответствующее количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

Хранение: Раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С. После вскрытия флакона концентрат ТМБ хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: После вскрытия флакона стоп-реагент хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранят при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1).

Все растворы должны быть комнатной температуры (18-25) °С.

7.3.2. Во все лунки стрипов внести по 60 мкл раствора для разведения сывороток (РС). В 2 лунки планшета внести по 40 мкл положительного контрольного образца ($К^+$), в 2 лунки – по

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

40 мкл отрицательного контрольного образца ($К^-$), в остальные лунки – по 40 мкл испытуемых образцов.

Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

Примечание: При смешивании РС с исследуемым образцом (контролями) происходит изменение цвета раствора в лунке планшета. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться.

Примечание: Возможен контроль внесения образцов (контролей) в лунки с РС с помощью спектрофотометра, при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих РС и исследуемый образец должна быть больше 0,400 о.е.

7.3.3. Стрипы заклеить липкой пленкой и инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

процедура 1 – 30 мин при температуре (37±1) °С, шейкер (500 об./мин);

процедура 2 – 1 час при температуре (37±1) °С, термостат.

7.3.4. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.1), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа.

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл рабочего промывочного раствора в режиме «*overflow*» – избыточной промывки). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

По окончании промывки необходимо использовать перекрестную аспирацию раствора из лунок (режим «*cross aspiration*»).

Если остаточный объём промывочного раствора в лунках превышает 10 мкл, то необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.5. Приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.3).

В каждую лунку внести по 100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении. Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Примечание: Возможен контроль внесения в лунки планшета раствора конъюгата в рабочем разведении с помощью спектрофотометра, при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат должна быть больше 0,120 о.е.

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

Стрипы заклеить липкой пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре (37±1) °С.

7.3.6. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз промывочным раствором и удалить влагу как описано выше (п. 7.3.4.).

7.3.7. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.4.).

Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении.

Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Планшет инкубировать 30 мин при температуре (18–25) °С в защищенном от света месте.

7.3.8. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (ОП).

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, рефренс-фильтр в диапазоне 620-650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОПК^-$) не более 0,2;

– значения оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом ($ОПК^+$) не менее 0,8.

По результатам ИФА рассчитать критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}К^- + 0,2,$$

где $ОП_{ср}К^-$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Для каждого исследуемого образца рассчитать коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{иссл.\ обр.}/ОП_{крит},$$

где $ОП_{иссл.\ обр}$ – оптическая плотность в лунках с исследуемыми образцами.

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

Если ОП К- и ОП $_{иссл.\ обр}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Исследуемый образец расценивают как отрицательный, если соответствующее ему значение КП меньше 1 (КП<1).

Исследуемый образец расценивают как положительный, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 (КП ≥ 1).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 ºС. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 ºС. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8 ºС в течение всего срока годности набора;

– положительный и отрицательный контрольные образцы, концентрат конъюгата, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, СБР, концентрат ТМБ, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 ºС в течение всего срока годности набора;

– промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

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

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «**Бест анти-ВГС**», обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____М.Д. Хусаинов

«___» _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С

«Бест анти-ВГС»

(комплект 4)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Бест анти-ВГС» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека и препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа. Рекомендуется для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

1.2. Комплект 4 набора рассчитан на проведение 480 анализов, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Набор предназначен для ручной постановки анализа (предусмотрено дробное использование набора: 10 независимых постановок). Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными белками, иммобили-зованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации смесь перокси-дазных конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека связывается с антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с

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

раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами вируса гепатита С, готовый для использования – 5 шт.;

– положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– отрицательный контрольный образец ($К^–$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

– конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), концентрат – 3 флакона (по 2,2 мл);

– раствор для разведения конъюгата (РК) – 3 флакона (по 20 мл);

– раствор для разведения сывороток (РС) – 3 флакона (по 16 мл);

– 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 флакона (по 100 мл);

– тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 3 флакона (по 1,5 мл);

– субстратный буферный раствор (СБР) – 3 флакона (по 20 мл);

– стоп-реагент, готовый для использования – 3 флакона (по 21 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

– пленками для заклеивания планшета – 10 шт.,

– ванночками для реагента – 2 шт.,

– наконечниками для пипеток – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587) – 100%.

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

3.2. Специфичность по антителам к ВГС – соответствие результатов качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587 – 100%).

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 250 образцах сывороток и плазм крови больных гепатитом С в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 294 отрицательных образцах сывороток и плазм крови условно здоровых доноров крови, больных гепатитом В и ВИЧ-инфицированных пациентов, показали 100% специфичность (интервал 99%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках;
- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98.
- утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 650 нм;

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивания при 500-800 об/мин и температуре (37±1) °С;

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

– холодильник бытовой;

– пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;

– пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей до 350 мкл;

– промывочное устройство для планшета;

– перчатки хирургические;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие растворы.

Примечание:

При использовании автоматических анализаторов рекомендуется связаться с изготовителем набора реагентов с целью получения возможной дополнительной информации от службы технической поддержки.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные образцы сыворотки (плазмы) или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови, за исключением препаратов иммуноглобулинов, исследовать неразведенными. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием разводить в 10 раз дистиллированной водой.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. *Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25)°С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

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

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре от 2 до 8 °С, использовать в течение всего срока годности.

Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор ТМБ.

При промывке лунки стрипа *(планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять вошер на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему вошера с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25; СБР; стоп-реагент, концентрат ТМБ*), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.

При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

Посуду (ванночки), используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду (ванночки) промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.

Посуду (ванночки), используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

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

7.2. Приготовление реагентов

7.2.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Тх25. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °С до полного растворения осадка.

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Тх25 развести дистиллированной водой до 2500 мл.

Тщательно перемешать.

Хранение: Промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней. После вскрытия флакона ФСБ-Т×25 хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.2. Контрольные образцы

Контрольные образцы $К^+$ и $К^-$ готовы к использованию.

Хранение: После вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием*.

Тщательно взболтать содержимое флаконов с раствором для разведения конъюгата (РК) и концентратом конъюгата.

Рассчитать, исходя из количества используемых стрипов, требуемый объём РК. Расход РК на 1 планшет (12 стрипов) составляет 12 мл.

В ванночку для реагентов отобрать необходимое количество РК, добавить концентрат конъюгата из расчета 100 мкл на 1 мл РК. Тщательно перемешать. Раствор конъюгата в рабочем разведении должен иметь равномерное окрашивание.

Хранение: Раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С. После вскрытия флаконов концентрат конъюгата хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.4. Приготовление раствора тетраметилбензидина в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с ТМБ рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток и ванночку для реагентов. Готовить непосредственно перед использованием.*

Рассчитать, исходя из количества используемых стрипов, требуемый объём СБР. Расход СБР на 1 планшет (12 стрипов) составляет 12 мл.

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

В ванночку для реагентов отобрать необходимое количество СБР, добавить ТМБ (концентрат) из расчета 50 мкл на 1 мл СБР. Тщательно перемешать.

Хранение: Раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С. После вскрытия флакона концентрат ТМБ хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: После вскрытия флакона стоп-реагент хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1.).

Все растворы должны быть комнатной температуры (18- 25) °С.

7.3.2. Во все лунки стрипов внести по 60 мкл раствора для разведения сывороток (РС). В 2 лунки планшета внести по 40 мкл положительного контрольного образца ($К^+$), в 2 лунки – по 40 мкл отрицательного контрольного образца ($К^-$), в остальные лунки – по 40 мкл испытуемых образцов.

Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).

Примечание: При смешивании РС с исследуемым образцом (контролями) происходит изменение цвета раствора в лунке планшета. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться.

Примечание: Возможен контроль внесения образцов (контролей) в лунки с РС с помощью спектрофотометра, при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих РС и исследуемый образец должна быть больше 0,400 о.е.

7.3.3. Планшет заклеить липкой пленкой и инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

процедура 1 – 30 мин при температуре (37±1) °С, шейкер (500 об/мин);

процедура 2 – 1 час при температуре (37±1) °С, термостат.

7.3.4. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.1), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа.

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

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл рабочего промывочного раствора в режиме *«overflow»* – избыточной промывки). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

По окончании промывки необходимо использовать перекрестную аспирацию раствора из лунок (режим *«cross aspiration»*).

Если остаточный объём промывочного раствора в лунках превышает 10 мкл, то необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.5. Приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.3).

В каждую лунку внести по 100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении. Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Планшет заклеить липкой пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре (37±1) °С.

Примечание: Возможен контроль внесения в лунки планшета раствора конъюгата в рабочем разведении с помощью спектрофотометра при длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат должна быть больше 0,120 о.е.

7.3.6. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз промывочным раствором и удалить влагу как описано выше (п. 7.3.4.).

7.3.7. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.4.).

Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении. Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

Планшет инкубировать 30 мин при температуре (18–25) °С в защищенном от света месте.

7.3.8. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (ОП).

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, рефренс-фильтр в диапазоне 620-650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

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

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОПК^-$) не более 0,20;

– значения оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом ($ОПК^+$) не менее 0,80.

По результатам ИФА рассчитать критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}К^- + 0{,}2,$$

где $ОП_{ср}К^-$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Для каждого исследуемого образца рассчитать коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{иссл.\ обр.}/ОП_{крит},$$

где $ОП_{иссл.\ обр}$ – оптическая плотность в лунках с исследуемыми образцами.

Если ОП К- и $ОП_{иссл.\ обр}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Исследуемый образец расценивают как отрицательный, если соответствующее ему значение КП меньше 1 (КП<1).

Исследуемый образец расценивают как положительный, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 (КП ≥ 1).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 ºС. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 ºС. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8 ºС в течение всего срока годности набора;

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

– положительный и отрицательный контрольные образцы, концентрат конъюгата, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, СБР, концентрат ТМБ, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 ºС в течение всего срока годности набора;

– промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «**Бест анти-ВГС**», обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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