«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____М.Д. Хусаинов
«___» _____ 2021г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для иммуноферментного выявления
антител к вирусу гепатита С и core антигена ВГС
(ВГС АГ/АТ – ИФА – БЕСТ)
комплект 1

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВГС АГ/АТ – ИФА – БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для одновременного выявления core антигена ВГС и иммуноглобулинов классов G и M к белкам вируса гепатита С (core, NS3, NS4) в сыворотке (плазме) крови. Рекомендуется для лабораторной диагностики гепатита С и обследования доноров крови.

1.2. Комплект 1 набора рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной (96 анализов) постановки на автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов и моноклональных антител к core антигену ВГС. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС и/или вирусного core антигена, происходит их связывание с рекомбинантными антигенами и/или моноклональными антителами к core антигену, иммобилизованными на поверхности лунок планшета, и одновременное образование комплекса нативного core антигена с биотинилированными моноклональными антителами к основному белку оболочки ВГС, которые входят в состав конъюгата №1. Во время второй инкубации стрептавидин-пероксидаза связывается с биотинилированными моноклональными антителами, а смесь пероксидазных конъюгатов козьих антител к IgG человека и козьих антител к IgM человека взаимодействует с сывороточными антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит

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

окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «моноклональное антитело-core антиген-биотинилированное моноклональное антитело» и «антиген-антитело». Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС и/или core антигена.

2.2. Состав набора.

Комплект 1 набора содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды:

– планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГС и моноклональными антителами к core антигену ВГС – 1 шт.;

– положительный контрольный образец № 1, содержащий антитела к антигенам ВГС ($К1^{+}$), инактивированный – прозрачная жидкость красного цвета – 1 фл., 1 мл;

– положительный контрольный образец № 2, содержащий рекомбинантный core антиген ВГС ($К2^{+}$), лиофилизированный – аморфная масса желтого цвета – 1 фл.; или прозрачная жидкость желтого цвета – 1 фл., 1,0 мл;

– отрицательный контрольный образец ($К^{–}$), инактивированный – прозрачная жидкость желтого цвета – 1 фл., 1,5 мл;

– конъюгат № 1 (биотинилированные моноклональные антитела к core антигену ВГС), лиофилизированный – аморфная масса белого или желтого цвета – 1 фл. или 2 фл.;

– конъюгат № 2 (стрептавидин-пероксидаза и козьи антитела к IgM и IgG человека, меченные пероксидазой хрена), лиофилизированный – аморфная масса белого или желтого цвета – 1 фл. или 2 фл.;

– раствор для предварительного разведения (РПР) – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 8 мл;

– раствор для разведения коньюгата №1 (РК1) – прозрачная жидкость синего цвета – 1 фл., 13 мл;

– раствор для разведения конъюгата № 2 (РК2) – прозрачная жидкость желтого цвета – 1 фл., 22 мл;

– 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до (30-40) °С – 1 фл., 28 мл;

– тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 1,5 мл;

– субстратный буферный раствор (СБР) – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 13 мл;

– стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

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

– ванночками для реагентов – 3 шт.;

– наконечниками для пипетки – 24 шт.;

– пленкой для заклеивания планшета – 3 шт;

– самоклеящимися этикетками со штрих-кодами для реагентов – 1 компл.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к белкам вируса гепатита С должен соответствовать требованиям СПП 05-2-371, включающей образцы сывороток, содержащие антитела к ВГС: чувствительность по иммуноглобулинам классов G и M к ВГС – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором core антигена ВГС должен соответствовать требованиям СОП 05-2-357, включающего образцы сывороток, содержащие рекомбинантный core антиген ВГС: чувствительность по core антигену ВГС – 100%.

3.3. Результат качественного определения набором антител к ВГС и антигена ВГС должен соответствовать требованиям СПП 05-2-371: специфичность по антителам к ВГС и core антигену ВГС – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

– работать в резиновых перчатках;

– не пипетировать растворы ртом;

– все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113-00.

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

– спектрофотометр, 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;

– автоматический ИФА анализатор открытого типа;

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

– термошейкер, поддерживающий температуру (37±1) °С, интенсивность перемешивания 400-800 об/мин;

– холодильник бытовой;

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

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

1000 мкл;

– пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 до 350 мкл;

– промывочное устройство для планшета;

– перчатки резиновые хирургические;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл;

– цилиндр вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);

– дезинфицирующие растворы, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08;

Примечание:

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

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

Сыворотки, 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 сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

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%.

Контрольные образцы, концентрированный раствор конъюгата должны быть приготовлены, как минимум, за 15 мин до их использования.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при (2-8) °С, использовать в течение 1 мес.

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

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

При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью и не касаться лунок наконечником пипетки. 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». Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25; СБР; тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат; стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех 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

7.2.1. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов; остальные стрипы снять с рамки и немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить при

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

температуре (2-8) ºС до 1 мес.

7.2.2. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогреть его до полного растворения осадка.

Необходимый объём ФСБ-Т×25 развести соответствующим объемом дистиллированной воды (см таблицу 1 и 2). Тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2-8) °С до 5 сут.

7.2.3. Контрольные образцы

Растворить лиофилизированный контрольный образец $К2^+$, добавив во флакон 1,0 мл РПР. Тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2-8) °С до 1 мес.

Жидкие контрольные образцы $К1^+$, $К2^+$ (при использовании жидкого образца) и $К^-$ готовы к использованию.

7.2.4. Растворы конъюгатов

<u>Внимание!</u> Для работы с конъюгатами рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

Приготовить концентрированные растворы конъюгатов путем растворения содержимого каждого флакона с конъюгатами № 1 и № 2 в 1 мл РПР.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов - при температуре (2-8) °С до 1 мес.

<u>Внимание!</u> Растворы конъюгатов № 1 и № 2 в рабочих разведениях готовить непосредственно перед использованием (при проведении постановки вручную) или перед загрузкой реагентов на борт анализатора (при постановке на автоматических ИФА-анализаторах открытого типа).

Тщательно взболтать содержимое флаконов с РК1 и РК2.

При ручной постановке анализа в пластиковую ванночку, прилагаемую к набору, отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 1 (см таблицу 1), добавить соответствующее количество РК1, аккуратно перемешать пипетированием, избегая вспенивания раствора.

В другую пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 2 (см таблицу 1), добавить соответствующее количество РК2, тщательно перемешать пипетированием.

При постановке на автоматическом ИФА анализаторе отобрать необходимое количество концентрированного конъюгата №1 (см. таблицу 2), добавить во флакон с РК1, тщательно перемешать. Во флакон с РК2 добавить необходимое количество концентрированного конъюгата №2 (см. таблицу 2), тщательно перемешать.

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

Хранение: растворы конъюгатов в рабочем разведении – при (18-25) °С до 3 ч.

Таблица 1

Таблица расхода реагентов набора при ручной постановке ИФА

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Приготовление промывочного раствора											
ФСБ-Тх25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
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 600
	Приготовление раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении											
Концентрированный раствор конъюгата № 1, мкл	α*	2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α
РК1, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
	Приготовление раствора конъюгата № 2 в рабочем разведении											
Концентрированный раствор конъюгата № 2, мкл	1,5×β*	3×β	4,5×β	6×β	7,5×β	9×β	10,5×β	12×β	13,5×β	15×β	16,5×β	18×β
РК2, мл	1,5	3,0	4,5	6,0	7,5	9,0	10,5	12,0	13,5	15,0	16,5	18,0
	Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении											
ТМБ, концентрат, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

Таблица 2

Таблица расхода реагентов при постановке целого планшета на автоматических ИФА анализаторах открытого типа.

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении		Раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении		Раствор ТМБ в рабочем разведении	
	ФСБ-Тх25, мл	Дистиллированная вода, мл	Концентрированный раствор конъюгата № 1, мкл	РК1, мл	Концентрированный раствор конъюгата № 2, мкл	РК2, мл	ТМБ, концентрат, мкл	СБР, мл
12 (планшет)	флакон	До 700	13×α*	флакон	22×β*	флакон	650	флакон

α= ΔΔΔ мкл β= ΔΔΔ мкл

Примечание: * - значения α и β указаны в паспорте и инструкции на данную серию наборов.

7.2.5. Приготовление раствора тетраметилбензидина

<u>Внимание!</u> Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, прилагаемой к набору, непосредственно перед использованием (при проведении постановки вручную) или перед загрузкой реагентов на борт анализатора (при постановке на автоматических ИФА-анализаторах открытого типа). Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином.

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

Необходимый объем концентрата тетраметилбензидина развести соответствующим объемом СБР (см. таблицу 1 и 2), тщательно перемешать. Приготовленный раствор тетраметилбензидина использовать в течение 3 ч при условии хранения в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С в чистых флаконах или специальной ёмкости, предназначенной для постановки ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

7.3. Проведение анализа

Внимание! Промывочный раствор, контрольный образец К2$^+$ и концентрированные растворы конъюгатов должны быть приготовлены, как минимум, за 15 мин до постановки ИФА и выдержаны при температуре (18-25)°С.

7.3.1. Приготовить раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении (п. 7.2.4).

7.3.2. Перед использованием лунки стрипов промыть 1 раз промывочным раствором, внося в каждую лунку не менее 400 мкл раствора. По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

7.3.3. Затем во все лунки внести по 100 мкл раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении.

В 1 лунку планшета внести 50 мкл К1$^+$, в 1 лунку – 50 мкл К2$^+$, в 2 лунки – по 50 мкл К$^–$, в остальные лунки – по 50 мкл цельных тестируемых сывороток. Внесение сывороток сопровождать тщательным перемешиванием (*пипетированием не менее 3 раз*), избегая вспенивания.

Внимание! Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Примечание! При смешивании раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении с исследуемым образцом (контролями) происходит изменение цвета раствора в лунке планшета. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться.

При постановке ИФА на автоматических ИФА-анализаторах контроль внесения образцов в лунки с рабочим разведением конъюгата №1 можно проводить с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность при длине волны 620 нм. Оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат №1 и образец должна быть больше 0,700 о.е.

7.3.4. Планшет инкубировать 90 мин на шейкере при температуре (37±1)°С и при встряхивании 600 об/мин (при «ручной» постановке – лунки планшета заклеить липкой пленкой).

При постановке вручную за 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении (п. 7.2.4).

7.3.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором.

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

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (450 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.

7.3.6. Во все лунки планшета внести по 150 мкл раствора конъюгата № 2 в рабочем разведении.

Внимание! Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.3.7. Планшет инкубировать 30 мин при (37±1)°С (при «ручной» постановке – лунки планшета заклеить липкой пленкой).

Примечание: При постановке ИФА на автоматических ИФА-анализаторах контроль внесения в лунки планшета раствора конъюгата №2 в рабочем разведении можно проводить с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность при длине волны 450 нм. Оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат №2 должна быть больше 0,900 о.е.

По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть 5 раз промывочным раствором, как описано выше (см п.7.3.5).

7.3.8. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.5).

Во все лунки внести по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении.

Внимание! Для внесения раствора ТМБ в рабочем разведении использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Планшет поместить на 25 мин в защищенное от света место при температуре (18-25)°С.

7.3.9. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку 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

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

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:

- среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср}К^-$) не более 0,20*;

** значения ОП $К^-$ и исследуемых образцов сывороток ниже 0,000 (со знаком «–») при расчетах $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать равными нулю.*

- значение ОП в лунках с положительными контрольными образцами $К1^+$ и $К2^+$ не менее 0,80.

Критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) рассчитать по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}К^- + 0,3}$$

Для интерпретации результатов исследования сывороток использовать коэффициент позитивности (КП):

$$\mathbf{КП = ОП_{иссл\ сыв} / ОП_{крит}}$$

Если КП < 1, результат оценивать как отрицательный. Если КП ≥ 1, исследуемую сыворотку расценивать как положительно реагирующую.

При обнаружении положительно реагирующей сыворотки этот образец исследовать повторно в этом же наборе параллельно в двух лунках *(для воспроизведения положительного результата или исключения технической ошибки)***.** При повторном получении положительного результата хотя бы в одной лунке - образец считать положительным. При отрицательных результатах повторного исследования образец считать отрицательным. Все положительно реагирующие образцы исследовать далее на наличие антител к антигенам ВГС в подтверждающем тесте, обладающем большей чувствительностью и специфичностью, или иммуноблоттинге. В случае необходимости использовать метод ПЦР для определения вирусной РНК или тест для определения core-антигена ВГС.

Рекомендуем положительные результаты анализа выдавать в виде коэффициентов позитивности, что является удобным при наблюдении за течением заболевания в динамике. При длительном наблюдении пациента с целью получения результатов адекватно отражающих изменение содержания маркера в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Наборы хранить и транспортировать при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

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

10.2. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора «**ВГС АГ/АТ – ИФА – БЕСТ**», 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
антител к вирусу гепатита С и core антигена ВГС
(ВГС АГ/АТ – ИФА – БЕСТ)
комплект 2

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВГС АГ/АТ – ИФА – БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для одновременного выявления core антигена ВГС и иммуноглобулинов классов G и M к белкам вируса гепатита С (core, NS3, NS4) в сыворотке (плазме) крови. Рекомендуется для лабораторной диагностики гепатита С и обследования доноров крови.

1.2. Комплект 2 набора рассчитан на проведение 192 анализов, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для постановок на автоматических ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного (до двенадцати независимых постановок) использования.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов и моноклональных антител к core антигену ВГС. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС и/или вирусного core антигена, происходит их связывание с рекомбинантными антигенами и/или моноклональными антителами к core антигену, иммобилизованными на поверхности лунок планшета, и одновременное образование комплекса нативного core антигена с биотинилированными моноклональными антителами к основному белку оболочки ВГС, которые входят в состав конъюгата №1. Во время второй инкубации стрептавидин-пероксидаза связывается с биотинилированными моноклональными антителами, а смесь пероксидазных конъюгатов козьих антител к IgG человека и козьих антител к IgM человека взаимодействует с сывороточными антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит

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

окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «моноклональное антитело-core антиген-биотинилированное моноклональное антитело» и «антиген-антитело». Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС и/или core антигена.

2.2. Состав набора.

Комплект 2 набора содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды:

– планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГС и моноклональными антителами к core антигену ВГС – 2 шт.;

– положительный контрольный образец № 1, содержащий антитела к антигенам ВГС ($К1^{+}$), инактивированный – прозрачная жидкость красного цвета – 2 фл., по 1,0 мл;

– положительный контрольный образец № 2, содержащий рекомбинантный core антиген ВГС ($К2^{+}$), лиофилизированный – аморфная масса желтого цвета – 2 фл.; или прозрачная жидкость желтого цвета – 2 фл., по 1,0 мл;

– отрицательный контрольный образец ($К^{–}$), инактивированный – прозрачная жидкость желтого цвета – 2 фл., по 1,5 мл;

– конъюгат № 1 (биотинилированные моноклональные антитела к core антигену ВГС), лиофилизированный – аморфная масса белого или желтого цвета – 2 фл.;

– конъюгат № 2 (стрептавидин-пероксидаза и козьи антитела к IgM и IgG человека, меченные пероксидазой хрена), лиофилизированный – аморфная масса белого или желтого цвета – 2 фл.;

– раствор для предварительного разведения (РПР) – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 8 мл;

– раствор для разведения коньюгата №1 (РК1) – прозрачная жидкость синего цвета – 2 фл., по 21 мл;

– раствор для разведения конъюгата № 2 (РК2) – прозрачная жидкость желтого цвета – 2 фл., по 26 мл;

– 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до (30-40) °С – 3 фл., по 28 мл;

– тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – прозрачная бесцветная жидкость – 2 фл., по 1,5 мл;

– субстратный буферный раствор (СБР) – прозрачная бесцветная жидкость – 2 фл., по 21 мл;

– стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость – 2 фл., 21 мл.

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

Набор дополнительно комплектуется:

– ванночками для реагентов – 3 шт.;

– наконечниками для пипетки – 24 шт.;

– пленкой для заклеивания планшета – 6 шт;

– самоклеящимися этикетками со штрих-кодами для реагентов – 1 компл.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов классов G и M к белкам вируса гепатита С должен соответствовать требованиям СПП 05-2-371, включающей образцы сывороток, содержащие антитела к ВГС: чувствительность по иммуноглобулинам классов G и M к ВГС – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором core антигена ВГС должен соответствовать требованиям СОП 05-2-357, включающего образцы сывороток, содержащие рекомбинантный core антиген ВГС: чувствительность по core антигену ВГС – 100%.

3.3. Результат качественного определения набором антител к ВГС и антигена ВГС должен соответствовать требованиям СПП 05-2-371: специфичность по антителам к ВГС и core антигену ВГС – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

– работать в резиновых перчатках;

– не пипетировать растворы ртом;

– все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113-00.

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

– спектрофотометр, 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;

– автоматический ИФА анализатор открытого типа;

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

– термошейкер, поддерживающий температуру (37±1) °С, интенсивность перемешивания 400-800 об/мин;

– холодильник бытовой;

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

– пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;

– пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 до 350 мкл;

– промывочное устройство для планшета;

– перчатки резиновые хирургические;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл;

– цилиндр вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);

– дезинфицирующие растворы, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08;

Примечание:

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

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

Сыворотки, 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 сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

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%.

Контрольные образцы, концентрированный раствор конъюгата должны быть приготовлены, как минимум, за 15 мин до их использования.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами

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

хранить при (2-8) °С, использовать в течение 1 мес.

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

При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью и не касаться лунок наконечником пипетки. 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». Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25; СБР; тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат; стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех 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

7.2.1. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка.

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

Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов; остальные стрипы снять с рамки и немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить при температуре (2-8) ºС до 1 мес.

7.2.2. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогреть его до полного растворения осадка.

В соответствии с используемым количеством стрипов необходимый объём ФСБ-Т×25 развести соответствующим объемом дистиллированной воды (см таблицу 1 и 2). Тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2-8) °С до 5 сут.

7.2.3. Контрольные образцы

Растворить лиофилизированный контрольный образец $К2^+$, добавив во флакон 1,0 мл РПР. Тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2-8) °С до 1 мес.

Жидкие контрольные образцы $К1^+$, $К2^+$ (при использовании жидкого образца) и $К^-$ готовы к использованию.

7.2.4. Растворы конъюгатов

<u>Внимание!</u> Для работы с конъюгатами рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

Приготовить концентрированные растворы конъюгатов путем растворения содержимого каждого флакона с конъюгатами № 1 и № 2 в 1 мл РПР.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов - при температуре (2-8) °С до 1 мес.

<u>Внимание!</u> Растворы конъюгатов № 1 и № 2 в рабочих разведениях готовить непосредственно перед использованием (при проведении постановки вручную) или перед загрузкой реагентов на борт анализатора (при постановке на автоматических ИФА-анализаторах открытого типа).

Тщательно взболтать содержимое флаконов с РК1 и РК2.

При ручной постановке анализа в пластиковую ванночку, прилагаемую к набору, отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 1 (см таблицу 1), добавить соответствующее количество РК1, аккуратно перемешать пипетированием, избегая вспенивания раствора.

В другую пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 2 (см таблицу 1), добавить соответствующее количество РК2, тщательно перемешать пипетированием.

При постановке на автоматическом ИФА анализаторе отобрать в ёмкость (или

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

дополнительный флакон) необходимое (в соответствии с числом используемых стрипов) количество РК1 (см. таблицу 2), добавить указанный объем концентрированного раствора конъюгата №1, тщательно перемешать.

В дополнительный флакон отобрать необходимое (в соответствии с числом используемых стрипов) количество РК2 (см. таблицу 2) добавить концентрированный раствор конъюгата №2, тщательно перемешать.

Хранение: растворы конъюгатов в рабочем разведении – при (18-25) °С до 3 ч.

Таблица 1

Таблица расхода реагентов набора при ручной постановке ИФА

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление промывочного раствора												
ФСБ-Тх25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
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 600
Приготовление раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор конъюгата № 1, мкл	α*	2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α
РК1, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Приготовление раствора конъюгата № 2 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор конъюгата № 2, мкл	1,5×β*	3×β	4,5×β	6×β	7,5×β	9×β	10,5×β	12×β	13,5×β	15×β	16,5×β	18×β
РК2, мл	1,5	3,0	4,5	6,0	7,5	9,0	10,5	12,0	13,5	15,0	16,5	18,0
Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ, концентрат, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

Таблица 2

Таблица расхода реагентов набора при постановке на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа **

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор конъюгата № 1, мкл	2,5×α*	3,5×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	8×α	9×α	10×α	11×α	21×α
РК1, мл	2,5	3,5	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	8,0	9,0	10,0	11,0	флакон
Приготовление раствора конъюгата № 2 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор конъюгата № 2, мкл	3×β*	4×β	6×β	7×β	8×β	9×β	10×β	12×β	13×β	14×β	15×β	26×β
РК2, мл	3,0	4,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	12,0	13,0	14,0	15,0	флакон
Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ, концентрат, мкл	125	175	200	250	300	350	400	400	450	500	550	1050
СБР, мл	2,5	3,5	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	8,0	9,0	10,0	11,0	флакон

α= ΔΔ мкл

β= ΔΔ мкл

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

Примечание: * - значения α и β указаны в паспорте и инструкции на данную серию наборов.

** - количество реагентов рассчитано на 6 независимых постановок при проведении анализа на автоматическом ИФА-анализаторе типа Evolis (фирма Bio-Rad).

7.2.5. Приготовление раствора тетраметилбензидина

Внимание! Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, прилагаемой к набору, непосредственно перед использованием (при проведении постановки вручную) или в дополнительном флаконе перед загрузкой реагентов на борт анализатора (при дробной постановке на автоматических ИФА анализаторах открытого типа). Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином.

В соответствии с используемым количеством стрипов необходимый объем концентрата тетраметилбензидина развести соответствующим объемом СБР (см. таблицу 1 и 2), тщательно перемешать. Приготовленный раствор тетраметилбензидина использовать в течение 3 ч при условии хранения в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С в чистых флаконах или специальной емкости, предназначенной для постановки ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

7.3. Проведение анализа

Внимание! Промывочный раствор, контрольный образец К2$^+$ и концентрированные растворы конъюгатов должны быть приготовлены, как минимум, за 15 мин до постановки ИФА и выдержаны при температуре (18-25)°С.

7.3.1. Приготовить раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении (п. 7.2.4).

7.3.2. Перед использованием лунки стрипов промыть 1 раз промывочным раствором, внося в каждую лунку не менее 400 мкл раствора. По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

7.3.3. Затем во все лунки внести по 100 мкл раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении.

В 1 лунку планшета внести 50 мкл К1$^+$, в 1 лунку – 50 мкл К2$^+$, в 2 лунки – по 50 мкл К$^-$, в остальные лунки – по 50 мкл цельных тестируемых сывороток. Внесение сывороток сопровождать тщательным перемешиванием (*пипетированием не менее 3 раз*), избегая вспенивания.

Внимание! Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Примечание! При смешивании раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении с исследуемым образцом (контролями) происходит изменение цвета раствора в лунке планшета. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться.

При постановке ИФА на автоматических ИФА-анализаторах контроль внесения

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

образцов в лунки с рабочим разведением конъюгата №1 можно проводить с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность при длине волны 620 нм. Оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат №1 и образец должна быть больше 0,700 о.е.

7.3.4. Планшет инкубировать 90 мин на шейкере при температуре (37±1)°С и при встряхивании 600 об/мин (при «ручной» постановке – лунки планшета заклеить липкой пленкой).

При постановке анализа вручную за 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении (п. 7.2.4).

7.3.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором.

Внимание! Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (450 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.

7.3.6. Во все лунки планшета внести по 150 мкл раствора конъюгата № 2 в рабочем разведении.

Внимание! Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.3.7. Планшет инкубировать 30 мин при (37±1)°С (при «ручной» постановке – лунки планшета заклеить липкой пленкой).

Примечание: При постановке ИФА на автоматических ИФА-анализаторах контроль внесения в лунки планшета раствора конъюгата №2 в рабочем разведении можно проводить с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность при длине волны 450 нм. Оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат №2 должна быть больше 0,900 о.е.

По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть 5 раз промывочным раствором, как описано выше (см п.7.3.5).

7.3.8. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении

Во все лунки внести по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.5).

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

Внимание! *Для внесения раствора ТМБ в рабочем разведении использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Планшет поместить на 25 мин в защищенное от света место при температуре (18-25)°С.

7.3.9. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку 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:

- среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср}К^-$) не более 0,20*;

* *значения ОП $К^-$ и исследуемых образцов сывороток ниже 0,000 (со знаком «–») при расчетах $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать равными нулю.*

- значение ОП в лунках с положительными контрольными образцами $К1^+$ и $К2^+$ не менее 0,80.

Критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) рассчитать по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}К^- + 0,3}$$

Для интерпретации результатов исследования сывороток использовать коэффициент позитивности (КП):

$$\mathbf{КП = ОП_{иссл\ сыв} / ОП_{крит}}$$

Если КП < 1, результат оценивать как отрицательный. Если КП ≥ 1, исследуемую сыворотку расценивать как положительно реагирующую.

При обнаружении положительно реагирующей сыворотки этот образец исследовать повторно в этом же наборе параллельно в двух лунках *(для воспроизведения положительного результата или исключения технической ошибки)***.** При повторном получении положительного результата хотя бы в одной лунке - образец считать положительным. При отрицательных результатах повторного исследования образец считать отрицательным. Все положительно реагирующие образцы исследовать далее на наличие антител к антигенам ВГС в подтверждающем тесте, обладающем большей чувствительностью и специфичностью, или

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

иммуноблоттинге. В случае необходимости использовать метод ПЦР для определения вирусной РНК или тест для определения core-антигена ВГС.

Рекомендуем положительные результаты анализа выдавать в виде коэффициентов позитивности, что является удобным при наблюдении за течением заболевания в динамике. При длительном наблюдении пациента с целью получения результатов адекватно отражающих изменение содержания маркера в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Наборы хранить и транспортировать при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

10.2. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора «**ВГС АГ/АТ – ИФА – БЕСТ**», 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