«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«07» октября 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита С
(БЕСТ анти-ВГС – IgM)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита С **«Бест анти-ВГС-IgM»** *(далее по тексту – набор)* предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса М (IgM) к вирусу гепатита С (ВГС) в сыворотке *(плазме)* крови человека методом твёрдофазного иммуноферментного анализа. Набор может быть использован в комплексной диагностике вируса гепатита С.

1.2. Набор реагентов рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли *(по 3 лунки в каждой постановке)*. Возможно дробное использование набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Метод определения IgM к ВГС основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации пероксидазный конъюгат 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». Интенсивность желтого окрашивания зависит от количества содержащихся в исследуемом образце IgM к ВГС. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением **оптической плотности (ОП)** в лунках планшета.

2.2. Состав набора.

Компонент набора (сокращение) описание	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГС	1 шт.
Положительный контрольный образец ($К^+$) *Содержит иммуноглобулины класса М к ВГС.* *Содержит натрия азид (0,1%)*	1 фл., 1 мл
Отрицательный контрольный образец ($К^-$) *Не содержит иммуноглобулины класса М к ВГС.* *Содержит натрия азид (0,1%)*	1 фл., 1 мл
Конъюгат *Антитела к IgM человека с пероксидазой хрена.*	1 фл., 13 мл

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

Содержит фенол (0,1%) ProClin 150 (0,022%), натрия мертиолят (0,01%), тетраметилбензидин (0,0035%	
Раствор для разведения сывороток (РС) *Содержит натрия азид (0,1%)*	1 фл., 10 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) *Содержит ProClin 300 (0,25%)*	1 фл., 28 мл
Раствор тетраметилбензидина (Раствор ТМБ) *Содержит 3,3',5,5' – тетраметилбензидин (0,025%)*	1 фл., 13 мл
Стоп-реагент *Содержит кислоту серную (4,9%)*	1 фл., 12 мл
Плёнки для заклеивания планшета	3 шт.
Наконечники для дозаторов	16 шт.
Ванночки для реагентов	2 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность:

диагностическая чувствительность выявления IgM к ВГС: клинические испытания, проведённые на 328 положительных образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от 253 пациентов, показали 100% чувствительность *(интервал 98,6%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

3.2. Диагностическая специфичность:

диагностическая специфичность выявления IgM к ВГС: клинические испытания, проведённые на 318 отрицательных образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от 243 пациентов, показали 100% специфичность *(интервал 98,5%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

3.3. Аналитическая специфичность.

Для оценки **аналитической специфичности** *(перекрестной реактивности)* использовали 173 образца сыворотки крови от пациентов с другими гетерологичными заболеваниями, вызванными следующими возбудителями: вирусами гепатитов А, В, Е, ВИЧ, *Treponema pallidum,* вирус клещевого энцефалита; образцы сыворотки крови беременных женщин; образцы, содержащие ревматоидный фактор. Перекрёстно реагирующих образцов обнаружено не было.

3.4. Воспроизводимость.

При тестировании положительных образцов в повторах коэффициент вариации оптической плотности в лунках внутри планшета, между планшетами одной серии, а также планшетами разных серий набора реагентов «Бест анти-ВГС-IgM» не превышает 15%.

3.5. Потенциально интерферирующие вещества.

В клинических испытаниях показано отсутствие влияния гемоглобина в концентрации до 10 мг/мл, билирубина в концентрации до 0,2 мг/мл, триглицеридов в концентрации до 30 мг/мл на результаты качественного определения иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита С с использованием набора реагентов **«Бест анти-ВГС-IgM»**.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению IgM к вирусу гепатита С, обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике. Допускать к работе с набором только специально обученный персонал с высшим или средним

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

медицинским, или биологическим *(ветеринарным)* образованием, прошедший подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получивший дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Стоп-реагент, раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента, раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, фенол, ProClin 300, ProClin 150, натрия мертиолят, тетраметилбензидин в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своём составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утверждённой Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических *(профилактических)* мероприятий».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения ОП растворов в лунках планшета при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при одной длине волны – 450 нм;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивания при 500–800 об/мин и температуре (37±1) °С;
- холодильник бытовой;
- дозаторы одноканальные и многоканальные со сменными наконечниками;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- промывочное устройство для планшета;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства;
- бумага фильтровальная лабораторная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований, изложены в ГОСТ Р 53079.4-

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

2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки и плазмы *(полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия, гепарина или ЭДТА)*.

6.3. Образцы сыворотки *(плазмы)* крови хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

6.4. Образцы, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) ° не менее 30 минут.
- При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2–8) °С, использовать в течение всего срока годности. Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2–30) °С.
- Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25; раствор ТМБ; стоп-реагент),* которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- При использовании устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% этиловом спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, 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.
- В случае повторного использования посуду *(ванночки)* для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду *(ванночки)* для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% раствором этилового спирта и тщательно отмыть дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (*ванночки)* дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

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

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Подготовка планшета.

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей необходимо прогреть его при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов *(см. таблицу расхода компонентов)* внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и довести до соответствующего объёма дистиллированной водой, тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2–8) ºС не более 1 месяца или при (18–26) ºС не более 7 суток.

7.4. Конъюгат.

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов *(см. таблицу расхода компонентов)* отобрать в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

7.5. Раствор ТМБ.

Раствор ТМБ готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов *(см. таблицу расхода компонентов)* отобрать в ванночку для реагента необходимое количество раствора ТМБ.

7.6. Контрольные образцы *($К^+$ и $К^-$)* и стоп-реагент готовы к использованию.

Таблица расхода компонентов

	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
Конъюгат												
Конъюгат, 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												
Раствор ТМБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	флакон

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл РС**.

В одну лунку внести **20 мкл К+**, в две другие лунки – по **20 мкл К–**, в остальные лунки – по **20 мкл исследуемых образцов**. Внесение контрольных и исследуемых образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием путем пипетирования. Время внесения образцов не должно превышать 10 минут.

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

Стрипы заклеить липкой плёнкой и инкубировать в термостатируемом шейкере при температуре (37±1) °С с интенсивностью перемешивания 500 об/мин **30 минут**.

8.2. По окончании инкубации снять пленку и поместить её в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором *(см. п. 7.3)*, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок стрипов. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки необходимо использовать перекрёстную аспирацию раствора из лунок *(режим «crosswise» или «cross aspiration»)* или тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.3. Внести во все лунки по **100 мкл конъюгата** *(см. п. 7.4)*, заклеить стрипы плёнкой и инкубировать в термостатируемом шейкере при температуре (37±1) °С с интенсивностью перемешивания 500 об/мин **30 минут**.

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и ***одноразовые*** *наконечники, входящие в состав набора. Остатки конъюгата из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).*

8.4. По окончании второй инкубации промыть лунки, как указано в п. 8.2.

8.5. Внести во все лунки планшета по **100 мкл раствора ТМБ** *(см. п. 7.5)* и инкубировать при температуре (18–26) °С в защищённом от прямого солнечного света месте **30 минут**.

Для внесения раствора ТМБ использовать ванночку для реагента и ***одноразовые*** *наконечники, входящие в состав набора. Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).*

8.6. Внести во все лунки по **100 мкл стоп-реагента**.

8.7. Измерить величину ОП растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение при одной длине волны – 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 5 минут.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср.}К^-$).

9.2. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с $К^-$ не более 0,2.

– значение ОП в лунке с $К^+$ не менее 0,8.

Вычислить **критическое значение ОП ($ОП_{крит.}$)** по формуле:

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

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

Для интерпретации результатов исследования образца использовать **коэффициент позитивности (КП),** который высчитывают в условных единицах:

$$\mathbf{КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.},}$$

где $ОП_{обр.}$ – оптическая плотность в лунке с исследуемым образцом.

Исследуемый образец расценивают как о**трицательный**, если соответствующее ему значение КП **меньше 1**.

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

10. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

10.1. Для достижения максимальных характеристик теста необходимо строгое соблюдение инструкции.

10.2. Применение теста строго ограничено обнаружением антител к ВГС в сыворотке или плазме крови человека. Характеристики теста в отношении проб другой природы не установлены.

10.3. Наличие в образце иммуноглобулинов класса IgM к ВГС свидетельствует только об активности инфекционного процесса. Однако, разграничить острую и хроническую стадию гепатита С с помощью данного теста нельзя.

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

10.4. Результат единичного теста не может являться достаточным основанием для постановки диагноза инфекционного заболевания.

10.5. Лица, у которых выявлены антитела к ВГС, подлежат обследованию на наличие РНК ВГС или core антигена ВГС. Диагноз острого и хронического гепатита С может быть установлен только при выявлении в сыворотке *(плазме)* крови РНК ВГС или core антигена ВГС, с учётом данных эпидемиологического анамнеза и результатов других клинико-лабораторных исследований.

10.6. Возможны различия в определении наличия антител к ВГС в наборах реагентов разных производителей, что связано с различиями в используемых антигенах, разнообразием иммунологических реакций, возникающих у пациентов.

10.7. Ложноположительный результат может быть получен на любом наборе реагентов, основанном на методе твёрдофазного иммуноферментного анализа. Процент ложноположительных результатов зависит от специфичности набора реагентов, качества исследуемого образца и от распространённости заболевания в исследуемой группе.

10.8. Отрицательный результат тестирования не исключает возможность наличия инфекции.

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

11.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

11.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

11.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

11.4. Набор предназначен для однократного применения.

11.5. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

12. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

12.3. Производитель обязуется за свой счёт 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-IgM»,
обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,
тел.: (383) 252-51-71, 227-60-30;
тел./факс: (383) 252-51-81, 252-51-77.

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

13. Графические символы

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n количества тестов		Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-71.

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