«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«21» 09 2022 г.
М.П.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G
к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов в сыворотке (плазме) крови
(ВектоВПГ-1,2-IgG)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВектоВПГ-1,2-IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы, допускается 12 независимых постановок ИФА по 8 образцов, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе. Специфическими реагентами набора являются очищенные антигены ВПГ 1 и 2 типов, сорбированные на поверхности лунок полистиролового планшета.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами ВПГ 1 и 2 типов. Антитела к вирусу простого герпеса связываются с иммобилизованными антигенами. Связавшиеся IgG выявляют при инкубации с конъюгатом моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. Количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм, допускается измерение при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна концентрации IgG к ВПГ в анализируемом образце.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами ВПГ 1 и 2 типов, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий IgG к ВПГ, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец ($К^-$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий IgG к ВПГ, готовый для использования – 1 флакон (3,0 мл);
- конъюгат – моноклональные антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 флакона (по 28 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – 1 флакон (10 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (12 мл);

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

– раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
– стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:
– пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;
– ванночками для реагента – 2 шт.;
– наконечниками для пипеток на 5–200 мкл – 16 шт.

По согласованию с потребителем дополнительно поставляется:
– планшет для предварительного разведения исследуемых образцов.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность выявления иммуноглобулинов класса G к ВПГ 1 и 2 типов – соответствие результатов определения набором IgG к ВПГ 1 и 2 типов требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-443), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с отрицательными сыворотками №1–№8 меньше величины критического значения оптической плотности ($ОП_{№1–№8} < ОП_{крит.}$).

3.2. Чувствительность выявления иммуноглобулинов класса G к ВПГ 1 и 2 типов – соответствие результатов определения набором IgG к ВПГ 1 и 2 типов требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-443), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с положительными сыворотками №9–№24 больше либо равны величине критического значения оптической плотности ($ОП_{№9–№24} \geq ОП_{крит.}$).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 февраля 1991 г. и в методических указаниях МУ-287-113 (утвержденных Департаментом госсанэпиднадзора МИНЗДРАВА РФ от 30.12.1998 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших 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, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2, деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

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

– спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
– термостат, поддерживающий температуру (37±1)°С;
– холодильник бытовой;

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

– бумага фильтровальная лабораторная;
– пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл (погрешность не более 5%);
– пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл (погрешность не более 5%);
– промывочное устройство для планшетов;
– перчатки резиновые хирургические;
– флаконы вместимостью 15 мл;
– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;
– вода дистиллированная;
– дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать мутную, гемолизованную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 6 мес.

Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°С.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°С не менее 1 ч.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

7.4. Подготовка положительного контрольного и отрицательного контрольного образцов

Положительный и отрицательный контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Контрольные образцы после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности.

7.5. Предварительное разведение исследуемых образцов

В лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток (РПРС) и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать. При разведении сыворотки красный цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет образца меняется незначительно.

Хранить не более 3 ч при температуре от 18 до 25°С.

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

7.6. Приготовление конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отоб-рать в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раст-вор конъюгата утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным конъюгатом!).***

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ отоб-рать в пластиковую ванночку для реагента и поместить в защищенное от света место.

Оставшийся после проведения ИФА раст-вор тетраметилбензидина утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ!).***

Раствор ТМБ после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внести контрольные образцы: 1 лунка – 100 мкл $К^+$, 2 лунки – по 100 мкл $К^-$, например, в лунку А-1, В-1 внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца, в лунку С-1 – 100 мкл положительного контрольного образца.

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток (РРС) и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови, перемешать пипетированием.

Раствор для разведения сывороток перед употреблением встряхнуть!

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

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех лунок планшета.

7.10. По окончании инкубации снять липкую пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 400 мкл промывочного раствора (см п. 7.3), с последующим отсасыванием через 30 с. Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. *Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.11. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

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

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.12. По окончании инкубации промыть планшет как описано в п. 7.10.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл раст-вора тетраметилбензидина.

Планшет выдержать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°С.

Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.14. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента.

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

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху).

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

9.2. Оценка результатов:

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом должно быть не более 0,15 ед. опт. плотн.

– значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 0,5 ед. опт. плотн.

9.3. Только при соблюдении положений п. 9.2 можно учитывать результаты, полученные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

9.4. На основании полученных данных вычислить критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$) по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит.} = ОП_{ср.}К^{-} + 0{,}10}$$

где:$ОП_{ср.}К^{-}$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным конт-рольным образцом.

Результат анализа считать **положительным**, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$.

Результат анализа считать **отрицательным**, если $ОП_{обр.} < ОП_{крит.}$.

Сам факт обнаружения антител в сыворотке не может расцениваться как показатель текущего заболевания. Для подтверждения диагноза необходимо исследовать титр сывороток, полученных в острую и рековалесцентную стадии болезни. Диагностически значимым результатом является более чем 4-кратное увеличение уровня антител в парных образцах сыворотки.

10. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА АНТИТЕЛ В ВЫЯВЛЕННЫХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦАХ

10.1. Если необходимо определить титр IgG к ВПГ в выявленных положительных образцах сыворотки (плазмы), непосредственно перед основной реакцией исследуемые образцы необходимо развести (раститровать) на рабочем планшете следующим образом:

В лунки А-1 – В-1 внести по 100 мкл $К^{-}$, в лунку С-1 внести 100 мкл $К^{+}$. В остальные лунки верхнего ряда А-2 – А-12 внести по 180 мкл раствора для разведения сывороток и по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов, перемешать пипетированием. Во все оставшиеся лунки внести по 100 мкл раствора для разведения сывороток.

Многоканальной пипеткой перенести по 100 мкл разведенных образцов сыворотки (плазмы) из лунок верхнего ряда в лунки второго ряда, перемешать (контрольные образцы не титровать). Из лунок второго ряда – в лунки третьего ряда, перемешать. Так же последовательно перенести до последнего ряда. Из пос-леднего ряда удалить по 100 мкл содержимого лунок. Таким образом, в вертикальных рядах получаются последовательные 2-кратные разведения исследуемых образцов.

10.2. Планшет закрыть пленкой и инкубировать в течение 30 мин при (37±1)°С.

10.3. Дальнейший ход анализа аналогичен описанному выше для выявления положительных образцов. Результаты анализа оцениваются аналогично.

10.4. За титр антител класса IgG к ВПГ принимается последнее разведение исследуемого образца, при котором значение ОП в соответствующей лунке больше либо равно $ОП_{крит.}$.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

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

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

Срок годности набора – 12 мес. со дня приемки ОБТК предприятия-изготовителя.

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

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- контрольные образцы, конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для предварительного разведения сывороток, раствор для разведения сывороток и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

11.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении раст-воров, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент, раствор для предварительного разведения сывороток), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

По вопросам, касающимся качества набора
«ВектоВПГ-1,2-IgG»,
следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ»
по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgG к ВПГ в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической доку-

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

ментации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7 настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

Ложноположительные результаты могут быть обусловлены:

а) получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50);

б) контаминацией отрицательных сывороток в рабочем и вспомогательных планшетах положительными сыворотками из соседних лунок; вероятность такой контаминации особенно высока при первичном скрининге исследуемых сывороток, так как на весь планшет обычно выявляется всего несколько отрицательных сывороток.

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

Для получения правильного рабочего разведения исследуемых сывороток необходимо:

а) при отборе 10 мкл сыворотки для предварительного разведения не погружать наконечник глубоко в сыворотку, чтобы исключить налипание сыворотки на внешнюю поверхность наконечника.

б) тщательно перемешивать сыворотку при предварительном разведении 1:10.

Для исключения взаимной контаминации сывороток во вспомогательном планшете для предварительного разведения сывороток и в рабочем планшете необходима тщательная и аккуратная работа, без разбрызгивания растворов. При скрининге исследуемых сывороток рекомендуется для сывороток, дающих ОП меньше 0,5–0,8 о.е., поставить отдельно дополнительный анализ.

4. Определение оценочного титра IgG к ВПГ с использованием величины коэффициента позитивности

Для определения оценочной величины титра IgG к ВПГ можно пользоваться упрощенной схемой, а именно:

Рассчитать критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$) по формуле:

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср.}К^{-} + 0{,}1$$

Рассчитать коэффициент позитивности (КП) исследуемого образца по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{крит.}}$$

Определить титр IgG к ВПГ в исследуемом образце по таблице №1 (Соответствие величины КП титру антител к ВПГ в зависимости от режима измерения).

Соответствие величины КП титру IgG к ВПГ, указанное в таблице, выполняется при условии использования спектрофотометра, имеющего динамический диапазон измерения оптической плотности не менее 0–3,0 о.е.

5. Определение оценочного титра IgG в сыворотках, имеющих высокую оптическую плотность (КП > 17 для одноволнового и КП > 22,6 для двухволнового режимов измерения)

Развести исследуемую сыворотку в 10 раз, используя раствор для разведения сывороток (90 мкл РРС + 10 мкл сыворотки).

Повторить анализ разведенного образца в соответствии с «Инструкцией по применению», начиная с п. 7.5 (конечное (рабочее) разведение образца 1/1000).

Рассчитать коэффициент позитивности (КП) исследуемого разведенного образца по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{разведенного\ образца}}{ОП_{крит.}}$$

Определить титр IgG к ВПГ в исходном неразведенном образце по таблице №2 (Соответствие величины КП титру антител к ВПГ).

В таблице 3 приведены примеры определения оценочного титра. Для экономии времени рекомендуем анализировать один образец сразу в двух разведениях (рабочее разведение 1/100 позволит выявить отрицательные и не пропустить слабоположительные сыворотки, а рабочее разведение 1/1000 позволит определить оценочный титр для образцов с высокой концентрацией IgG к ВПГ).

Определение титра IgG к ВПГ по упрощенной схеме позволяет оценить уровень специфического иммунного ответа без титрования исследуемых образцов. Однако следует иметь в виду, что титр IgG к ВПГ, определенный по упрощенной схеме, может приблизительно в 2 раза отличаться от реального титра. **В связи с этим исследование изменения титра IgG к ВПГ в «парных» образцах следует проводить методом прямого титрования.**

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

6. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ВектоВПГ-1,2-IgG»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести: по 100 мкл $К^+$, $К^-$;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.

Инкубировать: 30 мин, 37°С.

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 30 мин, 37°С.

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 25 мин, 18–25°С, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

7. Графические символы

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов	NON STERILE	Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-75-43

Расход компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т,	Дистил. вода,
1	1,0	1,0	2,0	до 50
2	2,0	2,0	4,0	до 100
3	3,0	3,0	6.0	до 150
4	4,0	4,0	8,0	до 200
5	5,0	5,0	10,0	до 250
6	6,0	6,0	12,0	до 300
7	7,0	7,0	14,0	до 350
8	8,0	8,0	16,0	до 400
9	9,0	9,0	18,0	до 450
10	10,0	10,0	20,0	до 500
11	11,0	11,0	22,0	до 550
12	12,0	12,0	24,0	до 600

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

Таблица №1

Соответствие величины КП титру IgG к ВПГ
(рабочее разведение образцов 1:100)

Одноволновой		Двухволновой режим измерения	
КП	Титр	КП	Титр
1,0–2,0	1:100	1,0–2,2	1:100
2,0–4,5	1:200	2,2–5,7	1:200
4,5–11,0	1:400	5,7–14,5	1:400
11,0–13,0	1:800	14,5–17,2	1:800
13,0–16,0	1:1600	17,2–21,3	1:1600
16,0–17,0	1:3200	21,3–22,6	1:3200
>17,0	>1:3200	>22,6	>1:3200

Таблица №2

Соответствие величины $КП_{разв. обр.}$ титру IgG к ВПГ *(рабочее разведение образцов 1:1000)*

Одноволновой режим измерения		Двухволновой режим измерения (референс-волна 620–655 нм)	
$КП_{разв. обр.}$	Титр исходного образца	$КП_{разв. обр.}$	Титр исходного образца
1.0- 4.0	1:1600	1.0-5.2	1:1600
4.0-11.0	1:3200	5.2-14.3	1:3200
11.0-16.0	1:6400	14.3-20.8	1:6400
>16.0	>1:6400	>20,8	>1:6400

Таблица №3

Примеры определения оценочного титра

Образец	ОП, о.е. референс-волна 620 нм	**КП** ($ОП_{крит.}$=0,106)	**Таблица №1** Оценочный титр	$КП_{разведенного образца}$ ($ОП_{крит.}$ = 0,106)	**Таблица №2** Оценочный титр исходного образца
Образец № 1	1,885	17,7	1:1600		
Образец № 1, разведенный в 10 раз	отриц				
Образец № 2	4,0.	> 22,6	> 1:3200		
Образец № 2, разведенный в 10 раз	0,708			6,6	1:3200
Образец № 3	4,0	> 22,6	> 1:3200		
Образец № 3, разведенный в 10 раз	2,035			19	1:6400

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