

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов
классов G и M
к вирусу гепатита С

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-0770

Бест анти-ВГС (комплект 3)

«Бест анти-ВГС» (комплект 3) представляет собой набор реагентов, основой которого являются рекомбинантные антигены ВГС, соответствующие участкам белков, кодируемых структурной (*core*) и неструктурной (*NS₃, NS₄, NS₅*) областью генома ВГС, иммобилизованные на поверхности лунок полистироловых планшетов.

Основным свойством набора является её способность выявлять в сыворотках крови человека антитела к ВГС (*IgG* и *IgM*) за счёт их взаимодействия с иммобилизованными на планшетах рекомбинантными антигенами этого вируса. Образование комплекса антиген-антитело выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды.

Один набор рассчитан на проведение **192** анализов (*по 5 лунок каждого планшета используют для постановки контролей*).

Набор предназначен для использования в автоматических ИФА-анализаторах. Возможна и ручная постановка анализа.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке (*плазме*) крови человека. Рекомендуется для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГС – 2 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+ , *прозрачная жидкость красного цвета*) – 2 фл. по 1 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^- , *прозрачная жидкость жёлтого цвета*) – 2 фл. по 1 мл;
- конъюгат (*антитела к IgM и IgG человека, меченные пероксидазой хрена*) – 2 фл.;
- раствор для разведения сывороток (*РС, жидкость красного цвета*) – 2 фл. по 16 мл;
- раствор для предварительного разведения (РПП) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения конъюгата (*РК, жидкость зелёного цвета*) – 2 фл. по 20 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 3 фл. по 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл. по 21 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 2 фл. по 1,5 мл;
- стоп-реагент – 2 фл. по 21 мл.

3. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

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.

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

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. 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, гемоли-

зированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при комнатной температуре (18-25)°С не менее 30 мин.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник (2-8)°С.
- При промывке лунки планшета заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
- При приготовлении растворов и про-

ведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.

- Посуду (*флаконы, ванночки*) для реактивов, используемую повторно, тщательно промывать дистиллированной водой, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- 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.

3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

3.1.1. Промывочный раствор

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

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой до **700** мл.

Хранение: при (2-8)°С до 72 ч.

3.1.2. Раствор конъюгата

Приготовить **концентрированный раствор конъюгата** путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в **1,0** мл РПР.

Хранение: концентрированный раствор конъюгата хранить при (2-8)°С до 1 месяца.

Затем приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении. Для этого отобрать из флакона **▲▲▲ мкл** концентрированного раствора конъюгата, внести во флакон с раствором для разведения конъюгата (РК) и тщательно перемешать.

Использовать в течение рабочего дня (8-10 ч).

3.1.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Тщательно перемешивая, растворить **1,2** мл концентрата **ТМБ** в содержимом флакона с СБР.

Избегать попадания прямого солнечного света на раствор ТМБ.

Использовать в течение рабочего дня (8-10 ч).

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2) и раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.3). Все растворы должны иметь комнатную температуру (18-25)°С.

Перед постановкой ИФА лунки планшета промыть 1 раз промывочным раствором.

***Внимание!** Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожением лунок должно быть не менее 30 сек.*

По окончании промывки тщательно удалить влагу из лунок.

3.2.2. Во все лунки планшета внести по **60 мкл РС**. В любые 2 лунки внести по **40 мкл K^+** , в 2 другие лунки – по **40 мкл K^-** , одну лунку оставить с РС – контроль конъюгата.

Во все остальные лунки внести по **40 мкл исследуемых сывороток**.

Планшет инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

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

процедура 2 – 37°С 1 час, термостат.

3.2.3. По окончании инкубации промыть планшет 5 раз промывочным раствором, тщательно удалить влагу из лунок как описано выше (п. 3.2.1).

3.2.4. Во все лунки внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

Планшет инкубировать при 37°С **30 мин**.

3.2.5. По окончании инкубации промыть планшет 5 раз промывочным раствором и удалить влагу.

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

Планшет инкубировать в защищённом от света месте при (18-25)°С **30 мин** или при 37°С **20 мин**.

3.2.7. Реакцию остановить добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП)

***Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H_2SO_4) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.*

4. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значение ОП в лунке с контролем конъюгата и среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср}К⁻) не более 0,2;

– среднее значение ОП в лунках с положительным контрольным образцом (ОП_{ср}К⁺) не менее 0,8.

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

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}}\text{К}^- + 0,2.$$

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

$$\text{КП} = \text{ОП}_{\text{иссл. сыв.}} / \text{ОП}_{\text{крит.}}$$

Если КП < 1, результат оценивать **как отрицательный**.

Если КП ≥ 1, исследуемую сыворотку расценивать **как положительно** реагирующую.

Коэффициент позитивности – удобная и простая величина для наблюдения заболевания в динамике.

При обнаружении положительно реагирующей сыворотки этот образец исследовать повторно в этом же наборе параллельно в двух лунках (*для подтверждения положительного результата или исключения технической ошибки*). При повторном получении положительного результата хотя бы в одной лунке образец исследовать далее в подтверждающем тесте, обладающем большей чувствительностью и специфичностью.

5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при (2-8)°С.

Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

Не допускать замораживания!

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться

в **ЗАО «Вектор-Бест»** по адресу:

*630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;
E-mail: plkobtk@vector-best.ru*

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-94-39.

19.05.10

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путём
ВИЧ-инфекция
TORCH-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@online.nsk.su

Internet: www.vector-best.ru