

ВЕКТОР



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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Бест анти-ВГС (комплект 1)

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-0771

«Бест анти-ВГС (комплект 1)» 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 способность выявлять в сыворотках крови человека антитела к ВГС (*IgG* и *IgM*) за счёт их взаимодействия с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета. Образование комплекса антиген-антитело выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата.

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

Набор рассчитан на 192 анализа, включая контроли (*по 5 лунок каждого планшета используют для постановки контролей*).

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) – 1 фл., 1 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^- , прозрачная жидкость жёлтого цвета) – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат (антитела к IgM и IgG человека, меченные пероксидазой хрена) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для разведения сывороток (РС, жидкость красного цвета) – 2 фл., 10 мл;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК, жидкость зелёного цвета) – 2 фл. по 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 фл. по 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл. по 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 21 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 4 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.

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)°C не более 5 суток, либо при минус (20±3)°C, 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, гемолизи-

рованные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты тест-системы необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18-25)°C.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник (2-8)°C.
- Растворы ТМБ и конъюгата готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**), не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь 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 ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно

быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость 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, концентрат ТМБ, 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.
- Ванночки, используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования ванночки для раствора конъюгата промыть дистиллированной водой; ванночки для раствора ТМБ сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контроль-

ными 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.

- Пипетки и рабочие поверхности во время проведения ИФА обрабатывать 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

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

Внимание! Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

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

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

Внимание! Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!

Тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения конъюгата (РК).

Отобрать из флакона **▲▲▲ мкл концентрированного раствора конъюгата** и внести во флакон с раствором для разведения конъюгата

(РК), тщательно перемешать.

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

3.1.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.

К содержимому флакона с СБР добавить **650 мкл концентрата ТМБ** и тщательно перемешать.

Раствор стабилен до 3-х ч в защищённом от света месте при (18-25)°С.

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1) и концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.2).

Перед использованием лунки планшета промыть 1 раз промывочным раствором.

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

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге. *Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями при постановке реакции.*

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 испытуемых сывороток**. *Внесение сывороток должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

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

процедура 2 – 37°C 1 час, термостат.

За 5 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

3.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором и удалить влагу, как описано выше (п. 3.2.1).

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

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

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать 30 мин при 37°C.

3.2.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором и удалить влагу, как описано выше.

3.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.3).

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

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

Планшет инкубировать 30 мин при (18-25)°С или 20 мин при 37°С в условиях, защищённых от света.

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

Внимание! Следует избегать попадания стоп-реагента 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):

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

Если КП < 1, результат оценивать как отри-

цательный. Если $KП \geq 1$, 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 воспроизведения положительного результата или исключения технической ошибки*). При повторном получении положительного результата хотя бы в одной лунке образец исследовать в подтверждающем тесте, обладающем большей чувствительностью и специфичностью.

5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при температуре (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.

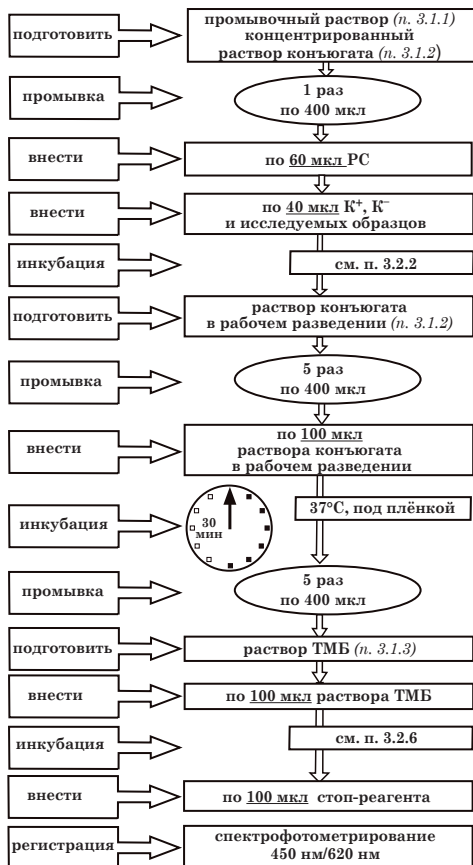
Рекламации на качество набора направлять:

в **Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских препаратов (ГИСК) им. Л.А. Тарасевича** по адресу:
*119002, Москва, пер. Сивцев Вражек, 41,
тел. (495) 241-39-22*

в **ЗАО «Вектор-Бест»** по адресу:
*630559, п. Кольцово Новосибирской обл.,
Новосибирского района, а/я 121,
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30, 227-67-64,
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44, 336-73-46,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru*

10.11.08

Схема анализа D-0771



**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