

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного выявления  
иммуноглобулинов класса М  
к вирусу гепатита Е

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

**Вектогел Е-IgM**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-1058**



## **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «Вектогеп Е-IgM» (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита Е (ВГЕ) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях для диагностики гепатита Е.

**1.2.** Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы. Для исследования небольших партий проб возможны 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контрольные образцы.

## **2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

### **2.1 ПРИНЦИП МЕТОДА**

В лунках планшета при добавлении исследуемого или контрольного образца во время первой инкубации происходит связывание имеющихся в образце иммуноглобулинов класса М к ВГЕ с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок рекомбинантными антигенами ВГЕ.

Во время второй инкубации связавшиеся иммуноглобулины класса М к ВГЕ взаимодействуют с добавленным в лунки конъюгатом моноклональных антител к IgM человека, меченных пероксидазой хрена.

Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» вызывают цветной реакцией с использованием хро-

могена – раствора тетраметилбензидина (ТМБ). Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgM к ВГЕ в анализируемом образце.

## 2.2 СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГЕ – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ; прозрачная жидкость желтого цвета) – 1 фл., 3,0 мл;
- раствор для разведения сывороток (PPC; прозрачная жидкость фиолетового цвета) – 1 фл., 12 мл;
- конъюгат (моноклональные антитела к IgM человека, меченные пероксидазой хрена; жидкость зеленого цвета) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; бесцветная прозрачная жидкость, возможно выпадение осадка солей) – 2 фл. по 28 мл;
- раствор тетраметилбензидина (прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент (бесцветная прозрачная жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;

- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

## 2.3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**2.3.1. Специфичность** при проверке отрицательных сывороток стандартной панели предприятия, не содержащих иммуноглобулины класса М к ВГЕ, составляет 100%.

**2.3.2. Чувствительность** при проверке положительных сывороток стандартной панели предприятия, содержащих иммуноглобулины класса М к ВГЕ, составляет 100%.

## 3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

**3.2.** 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.*

**3.3.** При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отде-

лах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

**3.4.** При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сывороток крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные передавать ВИЧ, вирусы гепатита или другой возбудитель вирусных инфекций.

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

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

**3.7.** Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор ( $H_2O_2$ , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

### **3.8. Точность и воспроизводимость результатов анализа зависят от строгого выполнения следующих правил:**

– не используйте реагенты с истекшим сроком годности;

– при постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест»;

– *запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;*

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

– используйте стеклянную посуду, тщательно вымытую и ополоснутую дистиллированной водой, или (предпочтительно) одноразовую посуду;

– не допускайте высыхания стрипов в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов;

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

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими при-

месями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- необходимо следить за состоянием промывочного устройства – регулярно обрабатывать шланги и емкости 70% этиловым спиртом;

- 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 протирать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с раствором ТМБ;

- проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;

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

#### **4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:**

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухвол-



- новом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ ;
  - холодильник бытовой;
  - пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл;
  - пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл;
  - промыватель для планшет;
  - перчатки резиновые хирургические;
  - бумага фильтровальная лабораторная;
  - цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100, 1000 мл;
  - флаконы стеклянные, вместимостью 10–15 мл;
  - вода дистиллированная;
  - раствор дезинфектанта.

## **5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**5.1.** Для анализа не следует брать гемолизированную, мутную сыворотку крови.

**5.2.** Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до  $8^\circ\text{C}$  не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус  $20^\circ\text{C}$  (и ниже) не более 3 мес. Необходимо избегать многократные замораживания/оттаивания образцов, так как это может привести к получению

неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

**5.3.** Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

**5.4.** Для отбора исследуемых образцов и компонентов набора реагентов использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

## **6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ**

**6.1.** Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

**6.2.** Контрольные образцы, конъюгат, раствор ТМБ и стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

### **6.3. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА**

**6.3.1.** Перед использованием содержимое флаконов встряхнуть.

**6.3.2.** Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

**6.3.3.** После первого вскрытия флаконы сразу плотно закрыть заворачивающимися крыш-

ками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°С в течение всего срока годности набора.

#### 6.4. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Неиспользованные стрипы следует вновь поместить в пакет с влагопоглотителем, плотно закрыть замок и положить в холодильник

*Хранение: при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.*

#### 6.5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА

Промывочный раствор приготовить разведением исходного концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином в 25 раз.

Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов набора реагентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

*Хранение: не более 5 суток при 2–8°С.*

#### 6.6. ПОДГОТОВКА КОНЪЮГАТА

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в

**Таблица расхода компонентов набора реагентов.**

Количество используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т, концентрат, мл	Дист. вода, мл
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

чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

*Остатки использованного конъюгата нельзя сливать во флакон с исходным конъюгатом.*

*Хранение: до 3 часов при 18–25°C.*

### 6.7. ПОДГОТОВКА РАСТВОРА ТМБ

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) ото-

брать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество раствора ТМБ.

*Остатки использованного ТМБ нельзя сливать во флакон с исходным ТМБ.*

*Хранение: не более 3 часов при 18–25°C в темноте.*

**Внимание!** *Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники.*

*Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции.*

*После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

### 7.1. Внести контрольные образцы:

- 1 лунка – 100 мкл  $K^+$ ;
- 2 лунки – по 100 мкл  $K^-$ .

Например, в лунки А-1 и В-1 внести по 100 мкл  $K^-$ . В лунку С-1 – 100 мкл  $K^+$ .

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешать пипетированием, при этом цвет раствора меняется с фиолетового на синий. Таким

образом, исследуемая сыворотка разбавляется в лунке в 10 раз.

Для повышения достоверности результатов постановку исследуемых образцов рекомендует-ся проводить в дублях, используя для каждого образца по две лунки.

Планшет закрыть пленкой и инкубировать 30 мин при 37°C.

**7.2.** По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 6.5.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**7.3.** Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата (п. 6.6.).

Планшет закрыть пленкой и инкубировать 30 мин при 37°C.

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

**7.4.** По окончании второй инкубации промыть планшеты 5 раз так, как указано в п. 7.2.

**7.5.** Внести во все лунки планшета по 100 мкл раствора ТМБ (п. 6.7.). Планшет поместить в защищенное от света место и выдержать в течение 25 мин при температуре 18–25°C.

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

**7.6.** Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента.

## **8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

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 одной длине волны – 450 нм.

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

## 9. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

*Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** 100 мкл  $K^+$ ,  $K^-$ ;  
по 90 мкл РРС и по 10 мкл исследуемых образцов.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,  
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,  
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C в темноте.
- Внести:** 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная  
длина волны – 620–655 нм.



## 10. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

**10.1.** Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ( $ОП_{ср.К^-}$ ).

**10.2.** Среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом должно быть не более 0,20 о.е.

Значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 0,60 о.е.

**10.3.** Оценку результатов проводить при условии полного выполнения положений п. 10.2.

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

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср.К^-} + 0,2.$$

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

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

**10.5.** При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации иммуноглобулинов классов М к вирусу гепатита Е в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

## **11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ**

**11.1.** Набор реагентов «Вектогеп Е-IgM» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (12 мес.).

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

Замораживание компонентов набора не допускается.

**11.2. Дробное использование набора** может быть реализовано в течение всего срока годности.

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

**По вопросам, касающимся качества набора реагентов,**  
следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская обл.,  
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,  
тел. (383) 336-73-46,  
тел./факс (383) 332-67-49,  
E-mail: vbobtk@vector-best. ru

**За справками и консультацией обращаться:**  
в лабораторию маркеров вирусных инфекций,

тел. (383) 227-75-40

15.09.10

**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 путем  
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./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)  
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52

*E-mail:* [vbmarket@vector-best.ru](mailto:vbmarket@vector-best.ru)  
Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)