

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса G к вирусу
гепатита G

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Вектогеп G – IgG

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1252



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Вектогеп G – IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к поверхностному белку E2 вируса гепатита G (HGV – IgG) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор реагентов может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях. Наличие в крови HGV – IgG свидетельствует о ранее перенесенной инфекции гепатита G. Текущую инфекцию подтверждают обнаружением в крови вирусной РНК.

1.3. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Для исследования небольшой партии проб возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения основан на двухстадийном твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантного поверхностного антигена E2 вируса гепатита G и моноклональных антител против IgG человека.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют с иммобилизованным на поверхности лунок планшета антигеном. Имеющиеся в анализируемых образцах специфические антитела связываются с антиге-

ном, формируя комплекс «антиген-антитело». На второй стадии связавшиеся специфические IgG взаимодействуют с конъюгатом моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляется 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 620–650 нм.

Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце HGV – IgG.

3. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованным антигеном вируса гепатита G – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+ ; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^- ; жидкость желтого цвета) – 1 фл., 2,5 мл;
- раствор для разведения сывороток (PPC; бесцветная или бледно-желтая жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- конъюгат, концентрат (моноклональные антитела против IgG человека, меченные пероксидазой хрена; жидкость синего цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; прозрачная бесцветная

жидкость, допускается наличие небольшого осадка солей, исчезающего при нагревании) – 2 фл. по 28 мл;

- субстратный буферный раствор (СБР; прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ; прозрачная бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость) – 1 фл., 1 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная 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.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000, приказ Минздравсоцразвития России №735 от 30 октября 2006 г.).

4.2. Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента, 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 набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, про-

изводственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

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

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

4.7. 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.

4.8. 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, РПРС, СБР, 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 субстрата;

– 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 приготовления конъюгата и рабочего раствора ТМБ; **обращаем Ваше особое внимание** на то, что малейшее, даже не видимое глазом загрязнение пипеток раствором конъюгата может привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ, поэтому необходимо протирать рабочую поверхность стола и конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом перед внесением ТМБ в СБР;

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

– не изменяйте протокол исследования;

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

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

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 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 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл;
- промыватель автоматический для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (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 крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

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

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, следует выдержать при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

7.2. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

7.2.1. Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

7.2.2. После первого вскрытия флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

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

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

7.4. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

7.5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРА ДЛЯ ОТМЫВКИ ПЛАНШЕТА И РАЗВЕДЕНИЯ КОНЪЮГАТА (ФСБ-Т однократный)

Раствор для отмывки планшета и разведения конъюгата 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.

7.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЬЮГАТА

В зависимости от числа используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество однократного ФСБ-Т, добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

Хранение: до 3 часов при 18–25°С.

7.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

Внимание! *Рекомендуется выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином. Посуду и наконечники для пипетки, контактирующие с раствором ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду и наконечники*

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Количество одно- временно используе- мых стрипов	Раствор для от- мывки планшета и разведения конъюгата		Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбен- зидина	
	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистилли- рованная вода, мл	Конъюгат, концентрат, мл	ФСБ-Т од- нократный, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл
1	2,0	до 50	0,1	1,0	0,05	1,0
2	4,0	до 100	0,2	2,0	0,10	2,0
3	6,0	до 150	0,3	3,0	0,15	3,0
4	8,0	до 200	0,4	4,0	0,20	4,0
5	10,0	до 250	0,5	5,0	0,25	5,0
6	12,0	до 300	0,6	6,0	0,30	6,0
7	14,0	до 350	0,7	7,0	0,35	7,0
8	16,0	до 400	0,8	8,0	0,40	8,0
9	18,0	до 450	0,9	9,0	0,45	9,0
10	20,0	до 500	1,0	10,0	0,50	10,0
11	22,0	до 550	1,1	11,0	0,55	11,0
12	24,0	до 600	1,2	12,0	0,60	12,0

ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество СБР, добавить соответствующее

количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

Допустимо голубое окрашивание рабочего раствора ТМБ, которое не оказывает влияния на результаты анализа.

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

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Внимание! *Внесение контрольных и исследуемых образцов проводить достаточно быстро, в течение 5–7 мин, так как при длительном времени внесения образцов в лунки планшета время инкубации первого и последнего образцов значительно отличаются, что может привести к неправильной оценке результатов.*

8.1. Контрольные образцы внести по следующей схеме:

- **1 лунка** – 100 мкл К⁺;
- **2 лунки** – по 100 мкл К⁻.

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл исследуемых сывороток.

Отрезать пленку требуемого размера. Стрип закрыть пленкой и инкубировать в термостате 30 мин при 37°C.

8.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть лунки планшета 5 раз раствором для

отмывки планшета (п. 7.5.) с помощью промышленного устройства. При этом в каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе одного промывания. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. 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.

8.3. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.6.).

Отрезать пленку требуемого размера. Стрип закрыть пленкой и инкубировать в термостате 30 мин при 37°C.

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

8.4. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок и промыть лунки планшета 5 раз так, как указано в п. 8.2.

8.5. Внести в каждую лунку по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина (п. 7.7.) и инкубировать в темноте в течение 25 мин при 18–25°C.

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

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

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допускается измерение оптической плотности на одной длине волны – 450 нм.

Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

10. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл исследуемых сывороток.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** раствором для отмывки планшета, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** раствором для отмывки планшета, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны – 620–650 нм.

11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

11.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом – $ОП_{ср} K^-$.

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

$$ОП_{крит} = ОП_{ср} K^- + 0,3$$

11.3. Результаты анализа учитывать при соблюдении следующих условий:

– значение $ОП_{ср} K^-$ должно быть не более 0,25 о.е.;

– значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом не менее чем в 3 раза превышает $ОП_{крит}$.

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

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

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

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

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

12.1. Набор «Вектогеп G – IgG» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия изготовителя при температуре 2–8°C в течение всего срока годности (9 мес). Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание набора не допускается.

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

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

**По вопросам, касающимся качества наборов,
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

07.11.09.

**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
Internet: www.vector-best.ru