

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного выявления  
иммуноглобулинов класса М  
к вирусу кори

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

**ВектоКорь – IgM**

НАБОР РЕАГЕНТОВ

**D-1358**



Набор реагентов «ВектоКорь – IgM» предназначен для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу кори в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая 3 контрольных образца. Для исследования небольшой партии проб возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов, включая 3 контрольных образца.

Комплектуется всеми необходимыми для ИФА реагентами.

## **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу кори в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использована в клинических и эпидемиологических исследованиях для диагностики острой фазы кори, начиная с 3 дня заболевания, а также для осуществления контроля иммунного ответа при вакцинации, для определения распространенности вируса кори среди людей при эпидемиологических исследованиях.

## **2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

### **2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод определения IgM к вирусу кори основан на твердофазном иммуноферментном анализе. Во время первой инкубации происходит связывание специфических IgM к вирусу кори, содержащихся в

исследуемых образцах сывороток крови, с иммобилизованными на поверхности лунок стрипов моноклональными антителами к IgM человека.

Во время второй инкубации связавшиеся иммуноглобулины класса М к вирусу кори взаимодействуют с добавленным в лунки рекомбинантным нуклеокапсидным белком вируса кори, конъюгированным с пероксидазой.

После удаления избытка несвязавшегося конъюгата во время инкубации с раствором тетраметилбенздина происходит окрашивание раствора в лунках. После добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации иммуноглобулинов класса М к вирусу кори в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови.

## 2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет с иммобилизованными моноклональными антителами к иммуноглобулинам класса М человека – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ; прозрачная или с легкой опалесценцией жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ; прозрачная или с легкой опалесценцией светло-желтая или бесцветная жидкость) – 1 фл., 3,0 мл;

- конъюгат, концентрат (рекомбинантный нуклеокапсидный белок вируса кори, меченный пероксидазой хрена; прозрачная жидкость синего цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС, прозрачная жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС, прозрачная или с легкой опалесценцией светло-желтая или бесцветная жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК, бесцветная или светло-желтая жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25, прозрачная бесцветная жидкость, допускается выпадение осадка солей) – 2 фл. по 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР; прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ, бесцветная или слегка желтоватая прозрачная жидкость) – 1 фл., 1 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12,0 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Чувствительность и специфичность – 100 % при проверке на сыворотках стандартной панели предприятия СПП, содержащих и не содержащих иммуноглобулины класса М к вирусу кори.

### **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 набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной 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 инфек-

ционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любые другие возбудители вирусных 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. 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;

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

– ферментативная реакция 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 примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– необходимо следить за состоянием промывочного устройства – регулярно обрабатывайте 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.

Ложноположительные результаты могут быть обусловлены получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50).

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.

## **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  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;
- колба вместимостью 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 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.

### 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 трех месяцев, но в пределах 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 трех месяцев, но в пределах срока годности набора.*

#### 7.4. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием перемешать встряхиванием.

#### 7.5. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ СЫВОРОТОК

Исследуемые сыворотки развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток (РПРС). Для этого внести во вспомогательный ряд пробирок или в лунки вспомогательного планшета по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельной сыворотки, тщательно перемешать. При этом малиновый цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, данная сыворотка может дать неправильный результат.

Хранение: до 3 часов при 18–25°C.

#### 7.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА

Рабочий 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.

**Таблица расхода компонентов набора реагентов**

Количество одновременно используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбензидина		Рабочий промывочный раствор	
	Конъюгат, концентрат (мл)	РРК (мл)	ТМБ, концентрат (мл)	СБР (мл)	ФСБ-Т, концентрат (мл)	Дистиллированная вода (мл)
1	0,1	1,0	0,05	1,0	2,0	До 50
2	0,2	2,0	0,10	2,0	4,0	До 100
3	0,3	3,0	0,15	3,0	6,0	До 150
4	0,4	4,0	0,20	4,0	8,0	До 200
5	0,5	5,0	0,25	5,0	10,0	До 250
6	0,6	6,0	0,30	6,0	12,0	До 300
7	0,7	7,0	0,35	7,0	14,0	До 350
8	0,8	8,0	0,40	8,0	16,0	До 400
9	0,9	9,0	0,45	9,0	18,0	До 450
10	1,0	10,0	0,50	10,0	20,0	До 500
11	1,1	11,0	0,55	11,0	22,0	До 550
12	1,2	12,0	0,60	12,0	24,0	До 600

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

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

#### 7.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЪЮГАТА

В зависимости от числа используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в

отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата, добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

*Хранение: до 3 часов при 18–25°C.*

## 7.8. 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 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

*Раствор РРС перед использованием перемешать встряхиванием.*

**8.1.** В лунку А-1 внести 100 мкл раствора для разведения сывороток (РРС). Лунка А-1 будет являться контролем поглощения раствора ТМБ.

Контрольные образцы внести по следующей схеме:

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

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

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых сывороток (п. 7.5.), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемая сыворотка в лунке разбавляется в 100 раз.

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 планшет 5 раз рабочим промывочным раствором (п. 7.6.) с помощью промывочного 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 опо-



рождением лунок после каждого цикла отмывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге. Фильтровальную бумагу менять после каждой операции.

**8.3.** В каждую лунку стрипа, кроме А-1, внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.7.). В лунку А-1 внести 100 мкл РРК.

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 планшеты 5 раз так, как указано в п. 8.2

**8.5.** Внести в каждую лунку по 100 мкл рабочего раствора ТМБ (п. 7.8.) 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, используя ту же самую последовательность и скорость раскпывания, что и для рабочего раствора ТМБ.

Убедитесь в чистоте основания стрипов. В случае загрязнения – тщательно протрите основание стрипов.

*В случае попадания на кожу стоп-реагента необходимо немедленно смыть его водой с мылом.*

## **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.

Проверьте соответствие между спектрофотометрическими и визуальными данными, а также между распределением проб в планшете и идентификационным протоколом.

## 10. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА.

*Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** 100 мкл РРС (лунка А-1);  
по 100 мкл  $K^+$ ,  $K^-$ ;  
по 90 мкл РРС и по 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных РПРС.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочим промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** 100 мкл РРК (лунка А-1);  
по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочим промывочным раствором, 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. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

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

11.2. Значение оптической плотности в лунке с контролем раствора тетраметилбензидина должно быть не более 0,10 ед. опт. плотн. (о.е.).

Среднее значение ОП в лунках с  $K^-$  не должно превышать 0,25 о.е.

Значение ОП в лунке с  $K^+$  должно быть не менее 1,0 о.е.

11.3. Оценку результатов проводить при условии полного выполнения положений п. 11.2.

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

$$ОП_{крит} = ОП_{ср} K^- + 0,2$$

11.5. Положительными считают сыворотки с  $ОП_{сыв} > ОП_{крит}$ , причем необходимо проведение повторного анализа таких сывороток для исключения ложноположительных результатов, обусловленных случайными, несистемными ошибками при постановке анализа.

Если значение оптической плотности исследуемой сыворотки  $ОП_{сыв} \leq 0,8 \times ОП_{крит}$ , то результат анализа считают **отрицательным**, IgM к вирусу кори не определены. Но это не означает, что пациент не инфицирован вирусом кори. Если кровь взята у больного в начале острой фазы заболевания, IgM в сыворотке кро-

ви могут отсутствовать, поэтому при подозрении на наличие инфекции (контакт, клинические проявления) рекомендуется исследовать сыворотку, взятую у пациента через 10–15 дней, на наличие IgM повторно.

Если ОП<sub>сыв</sub> попадает в интервал от  $0,8 \times$  ОП<sub>крит</sub> до ОП<sub>крит</sub>, рекомендуется повторить анализ таких сывороток. Если вновь результат анализа попадает в «серую зону», рекомендуется у этих пациентов исследовать сыворотку, взятую через 10–15 дней после первого забора, на наличие IgM и IgG для выявления сероконверсии и подтверждения факта первичного инфицирования вирусом кори.

**11.6.** При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgM к вирусу кори в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

## **12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ**

**12.1.** Набор реагентов «ВектоКорь-IgM» 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 в течение 10 суток.

Замораживание набора не допускается.

**12.2.** Дробное использование набора может быть реализовано в течение 3 месяцев, но в пределах срока годности набора.

**12.3.** 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](mailto:vbobtk@vector-best.ru)

27.11.09.

**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  
ТОРСН-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)