

ВЕКТОР



Набор реагентов для иммуноферментного  
выявления иммуноглобулинов класса G  
к вирусу простого герпеса

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

**ВектоВПГ – IgG**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-2152**



## **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «ВектоВПГ – IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов (IgG к ВПГ) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** 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. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

### **2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе. Специфическим реагентом набора является очищенный антиген ВПГ, сорбированный на поверхности лунок полистиролового разборного планшета.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках стрипов с иммобилизованным антигеном ВПГ. Антитела к ВПГ связываются с иммобилизованными антигенами. Несвязавшийся материал удаляют отмывкой. Связавшиеся IgG выявляют при инкубации с конъюгатом антител к IgG человека с пероксидазой хрена. После второй отмывки количество связавшегося конъюгата определяют 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-волна в диапазоне 620–650 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна концентрации IgG к ВПГ, содержащихся в исследуемом образце.

## 2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованным антигеном ВПГ – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- слабopоложительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ <sub>слаб</sub>; прозрачная жидкость зеленого цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ; прозрачная бесцветная или светло-желтая с легкой опалесценцией жидкость) – 1 фл., 3,0 мл;
- конъюгат, концентрат (антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена, прозрачная 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;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС; прозрачная жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10 мл;

- раствор для разведения сывороток (РРС; прозрачная бесцветная или светло-желтая с легкой опалесценцией жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК; прозрачная бесцветная или светло-желтая с легкой опалесценцией жидкость) – 1 фл., 13 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.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

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

**3.1.** Чувствительность выявления иммуноглобулинов класса G к ВПГ по ОСО 42-28-373-04 составляет 100%.

**3.2.** Специфичность выявления иммуноглобулинов класса G к ВПГ по ОСО 42-28-373-04 составляет 100%.

## **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

**4.1.** Потенциальный риск применения набора – класс 2a (ГОСТР 51609-2000, приказ Минздрав-соцразвития России №735 от 30 октября 2006 г.).

**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 инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

**4.5.** При использовании автоматического промывателя планшета необходимо следить за состоянием емкости с промывочным раствором и соединительных шлангов, не допуская образования

в них микробных заростов. Для этого раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги необходимо промывать 70% этиловым спиртом.

**4.6.** Пипетки и рабочие поверхности следует обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Нельзя использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

**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 ( $H_2O_2$ , дioxлор, 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 примесями, 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.

**Ложноположительные результаты могут быть обусловлены:**

**а)** получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50);

**б)** контаминацией отрицательных сывороток в рабочем и вспомогательных планшетах положительными сыворотками из соседних лунок; вероятность такой контаминации особенно высока при первичном скрининге исследуемых сывороток, так как на весь планшет обычно выявляется всего несколько отрицательных сывороток.

**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.

*Для исключения взаимной контаминации сывороток во вспомогательном планшете для предварительного разведения сывороток и в рабочем планшете необходима тщательная и аккуратная работа, без разбрызгивания растворов. При скрининге исследуемых сывороток рекомендуется для сывороток, дающих ОП меньше 0,5–0,8 о.е., поставить отдельно дополнительный анализ.*

## **5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 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 до 300 мкл;
- промыватель автоматический для планшет;
- 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 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 трех месяцев, но в пределах срока годности набора.

### **7.3. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА**

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка.

**Таблица расхода компонентов набора реагентов**

Кол-во используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбензи- дина		Раствор для отмывки планшета	
	Конъюгат, концентрат, мл	РРК, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистилл. 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

Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов; остальные стрипы снять с рамки и немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

*Неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить при температуре 2–8°C не более 3 мес.*

#### 7.4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРА ДЛЯ ОТМЫВКИ ПЛАНШЕТА

Раствор для отмывки планшета 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°C до полного растворения осадка.

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

#### 7.5. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Положительные и отрицательный контрольные образцы ( $K^+$ ,  $K^+_{\text{слаб}}$  и  $K^-$ ) готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

#### 7.6. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Исследуемые образцы развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток. Для этого во вспомогательный ряд пробирок или в лунки вспомогательного планшета внести по 90 мкл раствора и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы), тщательно перемешать. При этом малиновый

цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, данный образец может дать неправильный результат.

*Хранение:* при 18–25°C не более 3 ч.

#### 7.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЬЮГАТА

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата и добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

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

#### 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 реагентов 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 АНАЛИЗА**

*Раствор для разведения сывороток перед использованием перемешать встряхиванием.*

**8.1.** В лунку А-1 внести 100 мкл раствора для разведения сывороток (контроль поглощения рабочего раствора ТМБ).

Контрольные образцы внести по следующей схеме:

- **1 лунка** – 100 мкл  $K^+$ ;
- **1 лунка** – 100 мкл  $K^+$ <sub>слаб</sub>;
- **2 лунки** – по 100 мкл  $K^-$ .

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови (п. 7.6.), перемешать пипетированием.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 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 раствором для отмывки планшета (п. 7.4.) 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 опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**8.3.** В лунку А-1 внести 100 мкл РРК (контроль поглощения рабочего раствора ТМБ). В остальные лунки внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.7.).

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°C.

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

**8.4.** По окончании инкубации промыть планшет как описано в п. 8.2.

**8.5.** Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина (п. 7.8.).

Планшет выдержать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре 18–25°C.

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

**8.6.** Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и рабочий раствор тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента.

## **9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Допускается измерение оптической плотности при 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:** 100 мкл РРС (лунка А-1);  
по 100 мкл  $K^+$ ,  $K^+$ <sub>слаб</sub>,  $K^-$ ;  
по 90 мкл РРС и по 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных РПРС.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** раствор для отмывки планшета, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** 100 мкл РРК (лунка А-1),  
по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** раствор 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

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

11.2. Среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом не должно превышать 0,15 ед. опт. плотн. (о.е.).

Значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом ( $ОП K^+$ ) должно быть не менее 2,0 о.е.

Значение оптической плотности в лунке с слабоположительным контрольным образцом ( $ОП K^+_{слаб}$ ) должно быть не менее 0,5 о.е.

Значение оптической плотности в лунке с контролем раствора тетраметилбензидина должно быть не более 0,10 о.е.

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

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

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср}K^- + 0,10$$

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

где  $ОП_{обр}$  – оптическая плотность анализируемого образца.

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

**11.6.** Сам факт обнаружения антител в сыворотке не может расцениваться как показатель текущего заболевания. Для подтверждения диагноза необходимо исследовать титр сывороток, полученных в острую и рековалесцентную стадии болезни. Диагностически значимым результатом является более чем 4-кратное увеличение уровня антител в парных образцах сыворотки.

Для постановки окончательного диагноза рекомендуется исследование сыворотки, взятой на ранних стадиях заболевания, на наличие иммуноглобулинов класса М, а также исследование крови, слюны, мочи, ликвора, слезной жидкости, цервикальной жидкости, соскобов на наличие ДНК ВПГ или антигена ВПГ.

Совокупность результатов ИФА, выявления ДНК или антигена ВПГ, клиники и эпидемиологии инфекции позволяет ставить окончательный диагноз герпесной инфекции.

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

## **12. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА АНТИТЕЛ В ВЫЯВЛЕННЫХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦАХ**

**12.1.** При необходимости определения титра иммуноглобулинов класса G к ВПГ в выявленных

положительных образцах сыворотки, непосредственно перед основной реакцией исследуемые образцы необходимо развести (раститровать) на рабочем планшете следующим образом:

В лунку А-1 внести 100 мкл раствора для разведения сывороток (контроль поглощения рабочего раствора ТМБ), в лунки В-1, С-1 по 100 мкл  $K^-$ , в лунку D-1 – 100 мкл  $K^+$ , в лунку E-1 – 100 мкл  $K^+$ <sub>слаб</sub>. В остальные лунки верхнего ряда А-2 – А-12 внести по 180 мкл раствора для разведения сывороток и по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (7.6), перемешать пипетированием. Во все оставшиеся лунки внести по 100 мкл РРС.

Многоканальной пипеткой перенести по 100 мкл разведенных образцов сыворотки из лунок верхнего ряда в лунки второго ряда, перемешать (контрольные образцы не титровать). Из лунок второго ряда – в лунки третьего ряда, перемешать. Так же последовательно перенести до последнего ряда. Из последнего ряда удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором по 100 мкл содержимого лунок. Таким образом, в вертикальных рядах получают последовательные 2-кратные разведения исследуемых образцов.

**12.2.** Планшет закрыть пленкой, инкубировать в течение 30 мин при температуре 37°C.

**12.3.** Дальнейший ход анализа аналогичен описанному выше для выявления положительных образцов. Результаты анализа оцениваются аналогично.

**12.4.** За титр IgG к ВПГ принимается последнее разведение исследуемого образца, при котором значение ОП в соответствующей лунке больше или равно ОП<sub>крит.</sub>

### **13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА**

**13.1.** Набор «ВектоВПГ-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.

**13.2.** Дробное использование набора может быть реализовано не позднее **3 мес.** с момента проведения первого иммуноферментного анализа, но в пределах срока годности.

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

### **РЕКОМЕНДАЦИИ**

#### **14.1. Определение титра IgG к ВПГ с использованием величины коэффициента позитивности**

Для определения оценочной величины титра IgG к ВПГ можно пользоваться упрощенной схемой, а именно:

1. Рассчитать критическое значение оптической плотности (ОП<sub>крит.</sub>) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{ср.К}^-} + 0,1$$

2. Рассчитать коэффициент позитивности (КП) исследуемого образца по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{крит.}}$$

3. Определить титр IgG к ВПГ в исследуемом образце по таблице соответствия величины КП титру антител к ВПГ в зависимости от режима измерения.

**Таблица соответствия величины КП титру IgG к ВПГ в зависимости от режима измерения.**

Одноволновой режим измерения		Двухволновой режим измерения (референс-волна 620–650 нм)	
КП	Титр	КП	Титр
1,1–2,0	1:100	1,1–2,2	1:100
2,0–4,5	1:200	2,2–5,7	1:200
4,5–11,0	1:400	5,7–14,5	1:400
11,0–13,0	1:800	14,5–17,2	1:800
13,0–16,0	1:1600	17,2–21,3	1:1600
16,0–17,0	1:3200	21,3–22,6	1:3200
>17,0	>1:3200	>22,6	>1:3200

Соответствие величины КП титру IgG к ВПГ, указанное в таблице, выполняется при условии использования спектрофотометра, имеющего динамический диапазон измерения оптической плотности не менее 0–3,0 о.е.

**14.2. Для определения титра IgG в сыворотках, имеющих высокую оптическую плотность (КП>17 для одноволнового и КП>22,6 для двухволнового режимов измерения) рекомендуется:**

1. Развести исследуемую сыворотку в 10 раз, используя раствор для разведения сывороток (90 мкл РРС + 10 мкл сыворотки),

2. Повторить анализ разведенного образца в соответствии с «Инструкцией по применению», начиная с п. 7.

3. Рассчитать коэффициент позитивности (КП) исследуемого разведенного в 10 раз образца по формуле:

$$\text{КП} = \frac{\text{ОП}_{\text{разведенного образца}}}{\text{ОП}_{\text{крит.}}}$$

4. Определить титр IgG к ВПГ в исследуемом разведенном в 10 раз образце по таблице соответствия величины КП титру антител к ВПГ.

5. Определить титр IgG к ВПГ в исходном неразведенном образце по формуле:

$$\text{Титр}_{\text{исх. образца}} = \text{Титр}_{\text{разведенного образца}} \times 10$$

6. Определение титра IgG к ВПГ по упрощенной схеме позволяет оценить уровень специфического иммунного ответа без титрования исследуемых образцов. Однако следует иметь в виду, что титр IgG к ВПГ, определенный по упро-

щенной схеме может незначительно (~ 2 раза) отличаться от реального титра.

### **14.3. Исследование изменения титра IgG к ВПГ**

Исследование изменения титра IgG к ВПГ в «парных» образцах следует проводить при одновременной постановке этих образцов с использованием одного набора реагентов, при этом считать достоверным изменение титра антител в 4 раза. ***Недопустимо оценивать изменение титра антител, если результаты получены с использованием наборов разных производителей!***

**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)

12.02.10.

**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  
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)