

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса G
к вирусу Крымской-Конго
геморрагической лихорадки

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 04.05.2010
Приказом Росздравнадзора № 3682-Пр/10

ВекторКрым-КГЛ-IgG

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-5052

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу Крымской-Конго геморрагической лихорадки (К-КГЛ) в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа и может быть использован с целью дифференциальной диагностики К-КГЛ в клинических и эпидемиологических исследованиях.

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 контрольные образцы.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе.

В лунках полистироловых планшетов иммобилизованы поликлональные антитела к вирусу К-КГЛ, связанные с антигенами вируса К-КГЛ. При инкубации в лунках исследуемых образцов сывороток происходит связывание специфических антител к вирусу К-КГЛ с антигенами вируса К-КГЛ. Несвязавшийся материал отмывают, добавляют в лунки конъюгат, состоящий из моноклональных антител против IgG человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, после инкубации которого лунки промывают и

вносят раствор тетраметилбензидина (хромоген) и перекись водорода (субстрат пероксидазы). В результате ферментативной реакции образуется окрашенный продукт, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации в лунках специфических антител к вирусу К-КГЛ.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит.}$ анализируемые образцы оцениваются как положительные или отрицательные.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованным антигеном вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (К-КГЛ) – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+), инаktivированный – на основе инаktivированной сыворотки крови человека, содержащей IgG к вирусу К-КГЛ – прозрачная жидкость красного цвета – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K^-), инаktivированный – на основе инаktivированной

- сыворотки крови человека, не содержащей IgG к вирусу К-КГЛ – прозрачная бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость – 1 флакон (3,0 мл);
- конъюгат – моноклональные антитела против IgG человека, меченные пероксидазой хрена, готовый для использования – прозрачная жидкость синего цвета – 1 флакон (13 мл);
 - 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до (30–40)°C – 2 флакона (по 28 мл);
 - раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – прозрачная жидкость малинового цвета – 1 флакон (10 мл);
 - раствор для разведения сывороток (РРС) – прозрачная бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость – 1 флакон (12 мл);
 - раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость – 1 флакон (13 мл);
 - стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- планшетом для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.;
- пленкой для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность набора, определенная по сывороткам стандартной панели предприятия, содержащим IgG к вирусу К-КГЛ (СПП 05-2-229), составляет 100 %.

3.2. Специфичность набора, определенная по сывороткам стандартной панели предприятия, не содержащим IgG к вирусу К-КГЛ (СПП 05-2-229), составляет 100 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент (0,5 М раствор серной кислоты) 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.

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

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

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кро-

ме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

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

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета 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°C;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 8°C;
- 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;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8°C не более

5 суток, а также хранившихся при минус 20°C не более 3 мес.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 5 мин при 5000–10000 об/мин при температуре от 18 до 25°C .

Нельзя использовать проросшие, гиперлипидные образцы или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию. После размораживания образцы тщательно перемешать.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. 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 объемов не более 5%.

Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8°C.

При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, 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 с.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть заметного роста микроорганизмов. Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги следует промывать 70% спиртом.

Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.

При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.

В случае повторного использования посуды (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*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 контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативно-го воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

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

7.2. Приготовление реагентов

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°C в течение 60 мин.

7.2.1. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом со стороны замка, отступив примерно 1 см. 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 от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.2.2. Приготовление контрольных образцов (K⁺, K⁻)

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

7.2.3. Подготовка исследуемых образцов

Исследуемые сыворотки развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток. Для этого, используя планшет для предварительного разведения образцов, к 90 мкл РПРС добавить 10 мкл цельной сыворотки, тщательно перемешать. При этом цвет раствора дол-

жен измениться с малинового на желтый. Если изменения не произошло, сыворотка для анализа не годится. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

Приготовленные 10-ти кратные разведенные сыворотки можно хранить до 3 часов при температуре от 18 до 25°C.

7.2.4. Приготовление промывочного раствора

В соответствии с числом стрипов (см. таблицу расхода реагентов) в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл внести необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 и довести до необходимого объема дистиллированной водой, тщательно перемешать до полного растворения. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре (30–40)°C до полного растворения осадка.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C до 5 суток .

7.2.5. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки утилизировать **(не сливать во флакон с исходным конъюгатом).**

7.2.6. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию. Исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина. Непосредственно перед внесением и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

*Утилизировать раствор тетраметилбензидина, оставшийся в ванночке или флаконе после проведения ИФА **(не сливать во флакон с исходным раствором)**.*

***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 окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

7.2.7. Подготовка раствора для разведения сывороток

Перед использованием тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения сывороток.

Таблица расхода компонентов набора

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. 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

7.3. Проведение 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.*

7.3.1. Внести в две лунки, например, А-1 и В-1, по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-) и в одну лунку, например, С-1, – 100 мкл положительного контрольного образца (K^+).

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.2.3), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемый образец в лунке разбавляется в 100 раз.

7.3.2. Планшет заклеить пленкой и инкубировать 1 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.3.3. 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. 7.2.4), 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.

7.3.4. В лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата (п. 7.2.5).

Для внесения раствора конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в комплектацию.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.3.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть 5 раз промывочным раствором так, как указано в п. 7.3.3.

7.3.6. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина (см. п. 7.2.6.).

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

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

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

В случае попадания на кожу раствора тетраметилбензидина или стоп-реагента необходимо немедленно смыть их водой с мылом.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень (бланк) осуществлять по воздуху).

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

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

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср.} (K^-) + 0,2$$

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

9.2. Среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом $ОП_{ср.} (K^-)$ не должно превышать 0,25 ед. опт. плотн.

Значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 1,0 ед. опт. плотн.

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

Результат анализа считают **сомнительным**, если $0,8 < ОП_{обр.} < ОП_{крит.}$;

Результат анализа считают **отрицательным**, если $ОП_{обр.} \leq 0,8 \times ОП_{крит.}$;

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

Если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$, то результат анализа исследуемого образца считают положительным. Присутствие IgG к вирусу К-КГЛ отражает наличие текущей или перенесенной ранее инфекции.

Если $ОП_{обр.}$ попадает в интервал от $0,8 \times ОП_{крит.}$ до $ОП_{крит.}$, то результат анализа сомнительный. Рекомендуются повторить анализ такой сыворотки. При повторном сомнительном результате необходимо проанализировать сыворотку, полученную через 10–15 дней, параллельно с 1-м образцом сыворотки, чтобы проследить увеличение концентрации IgG.

Если $ОП_{обр.} \leq 0,8 \times ОП_{крит.}$, то результат анализа считают отрицательным, IgG к вирусу К-КГЛ не определены. Но это не означает, что пациент не инфицирован вирусом К-КГЛ. Если кровь взята у больного в начале острой фазы заболевания, IgG в сыворотке крови могут отсутствовать, поэтому при подозрении на наличие инфекции (клинические проявления) рекомендуется исследовать сыворотку на наличие IgM и провести анализ на наличие IgG и IgM сыворотки, взятой у пациента через 10–15 дней.

Если при анализе парных сывороток образец, взятый в острую фазу, негативный, а образец, взятый в фазу реконвалесценции, позитивный, имеет место сероконверсия, что свидетельствует о первичной инфекции.

При анализе парных сывороток для контроля изменения концентрации IgG или нали-

чия сероконверсии оба образца должны быть тестированы в дубликате одномоментно во время одной постановки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА АНТИТЕЛ В ВЫЯВЛЕННЫХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦАХ

Если необходимо определить титр антител в выявленных положительных образцах, непосредственно перед основной реакцией проводят титрование исследуемых сывороток следующим образом:

В лунки А-1 – В-1 внести по 100 мкл K^- , в лунку С-1 внести 100 мкл K^+ . 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, перемешать пипетированием. Во все оставшиеся лунки внести по 100 мкл раствора для разведения сывороток.

Многоканальной пипеткой перенести по 100 мкл разведенных образцов сыворотки (плазмы) 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 по 100 мкл содержимого лунок. Таким образом, в вертикальных рядах получают последовательные 2-кратные разведения исследуемых образцов.

Планшет закрыть и инкубировать при температуре $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 60 мин. Дальнейший ход анализа аналогичен выше описанному.

Результаты анализа оценивают аналогично вышеописанному. Титром считают последнее разведение исследуемой сыворотки, при котором ОП в соответствующей лунке на 0,2 единицы превышает $\text{ОП}_{\text{ср. К}^-}$.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора – при температуре от 2 до 8°C . Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя – при температуре от 2 до 8°C . Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности – 12 мес. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

По вопросам, касающимся качества набора

«ВектоКрым-КГЛ-IgG»,

следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ»

по адресу:

630559, Новосибирская область,

Новосибирский район,

п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 363-13-46,

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

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

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших

вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов

реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

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

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

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипе-

ток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

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

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

— Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

— Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

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 крови из соседних лунок.

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.

4. Оценка анализа по коэффициенту позитивности

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно ОП_{крит.} (п. 9.1).

В случае необходимости оценки результатов по коэффициенту позитивности провести повторное измерение ОП в режиме: основной фильтр – 405 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение без использования референс-фильтра.

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих $ОП_{450} \leq 3,5$ о.е., использовать формулу:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{450 \text{ обр.}}}{ОП_{крит.}},$$

где ОП_{450 обр.} – ОП образца, полученная в двухволновом режиме 450/620–655 нм (или только с фильтром 450 нм).

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих $ОП_{450} > 3,5$ о.е., использовать формулу:

$$КП_{обр.} = 3,2 \times \frac{ОП_{405\text{ обр.}}}{ОП_{крит.}},$$

где $ОП_{405\text{ обр.}}$ – ОП образца, полученная в двухволновом режиме 405/620–655 нм (или только с фильтром 405 нм).

Результат анализа **положительный**, если $КП_{обр.} \geq 1$, где $КП_{обр.}$ – коэффициент позитивности исследуемого образца.

Результат анализа **отрицательный**, если $КП_{обр.} \leq 0,8$.

Результат анализа **сомнительный**, если соответствующее ему значение $КП_{обр.}$ попадает в интервал от 0,8 до 1,0.

Расчет КП целесообразно проводить для оценки концентрации специфических антител класса G в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации IgG к вирусу К-КГЛ в динамике в парных образцах сывороток.

5. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ВектоКрым-КГЛ-IgG»

*Использовать только после тщательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл
предварительно разведенных
анализируемых образцов.
- Инкубировать:** 60 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 тетраме-
тилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная
длина волны 620–655 нм.

6. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-57-95.

29.02.16.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

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

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса М
к вирусу Крымской-Конго
геморрагической лихорадки

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 04.05.2010
Приказом Росздравнадзора № 3680-Пр/10

ВекторКрым-КГЛ-IgM

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-5054

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу Крымской-Конго геморрагической лихорадки (К-КГЛ) в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе.

В лунках полистироловых планшето́в иммобилизованы моноклональные антитела к IgM человека. Во время первой инкубации, при внесении в лунки планшета исследуемого образца происходит связывание присутствующих в нем иммуноглобулинов класса М с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к IgM человека. После удаления промыванием несвязавшихся компонентов сыворотки, в лунки планшета вносят смесь конъюгата и антигена вируса К-КГЛ. Во время второй инкубации, связавшиеся специфические IgM взаимодействуют с антигеном вируса К-КГЛ, находящемся в комплексе с пероксидазным конъюгатом.

После удаления несвязавшихся компонентов реакции, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина (хромоген) и перекисью водорода (субстрат пероксидазы), происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски пропорциональна концентрации IgM к вирусу К-КГЛ в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании рассчитанного значения ОП_{крит.} анализируемые образцы оцениваются как положительные или отрицательные.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к IgM человека – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+), инактивированный – на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей IgM к вирусу К-КГЛ – прозрачная красного цвета жидкость – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K^-), инактивированный – на основе инактивированной сыво-

ротки крови человека, не содержащей IgM к вирусу К-КГЛ – прозрачная бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость – 1 флакон (3,0 мл);

- конъюгат, смесь антигена вируса К-КГЛ и поликлональных мышинных антител к вирусу К-КГЛ с пероксидазой хрена – жидкость синего цвета – 1 флакон (13 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до (30–40)°С – 2 флакона (по 28 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – прозрачная жидкость малинового цвета – 1 флакон (10 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – прозрачная бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость – 1 флакон (12 мл);
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- планшетом для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.;
- пленкой для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность набора, определенная по сывороткам стандартной панели предприятия, содержащим IgM к вирусу К-КГЛ (СПП 05-2-230), составляет 100%.

3.2. Специфичность набора, определенная по сывороткам стандартной панели предприятия, не содержащим IgM к вирусу К-КГЛ (СПП 05-2-230), составляет 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент (0,5 М раствор серной кислоты) 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.

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

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

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кро-

ме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

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

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета 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°C;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 8°C;
- 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;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре от 2 до 8°C не более

5 суток, а также хранившихся при минус 20°C не более 3 мес.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 5 мин при 5000–10000 об/мин при температуре от 18 до 25°C .

Нельзя использовать проросшие, гиперлипидные образцы или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию. После размораживания образцы тщательно перемешать.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. 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 объемов не более 5%.

– Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8°C.

– При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, 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 с.

– При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть заметного роста микроорганизмов. Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги следует промывать 70% спиртом.

– Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.

– При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

– В случае повторного использования посуды (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*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 контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативно-го воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

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

7.2. Приготовление реагентов

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°C в течение 60 мин.

7.2.1. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом со стороны замка, отступив примерно 1 см. 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 от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.2.2. Приготовление контрольных образцов (K⁺, K⁻)

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

7.2.3. Подготовка исследуемых образцов

Исследуемые сыворотки развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток. Для этого, используя планшет для предварительного разведения образцов, к 90 мкл РПРС добавить 10 мкл цельной сыворотки, тщательно перемешать. При этом цвет раствора дол-

жен измениться с малинового на желтый. Если изменения не произошло, сыворотка для анализа не годится. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

Приготовленные 10-тикратно разведенные сыворотки можно хранить до 3 часов при температуре от 18 до 25°C.

7.2.4. Приготовление промывочного раствора

В соответствии с числом стрипов (см. таблицу расхода реагентов) в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл внести необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 и довести до необходимого объема дистиллированной водой, тщательно перемешать до полного растворения. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре (30–40)°C до полного растворения осадка.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C до 5 суток.

7.2.5. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки утилизировать **(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)**.

7.2.6. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию. Исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина. Непосредственно перед внесением и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

*Утилизировать раствор тетраметилбензидина, оставшийся в ванночке или флаконе после проведения ИФА **(не сливать во флакон с исходным раствором)**.*

***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 окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

7.2.7. Подготовка раствора для разведения сывороток

Перед использованием тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения сывороток.

Таблица расхода компонентов набора

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. 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

7.3. Проведение 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.*

7.3.1. Внести в две лунки, например, А-1 и В-1, по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-) и в одну лунку, например, С-1, — 100 мкл положительного контрольного образца (K^+).

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.2.3), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемый образец в лунке разбавляется в 100 раз.

7.3.2. Планшет заклеить пленкой и инкубировать 1 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.3.3. 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. 7.2.4), 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.

7.3.4. В лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата (п. 7.2.5).

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

Планшет заклеить пленкой и инкубировать 90 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.3.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть 5 раз промывочным раствором так, как указано в п. 7.3.3.

7.3.6. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина (см. п. 7.2.6.).

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

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

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

В случае попадания на кожу раствора тетраметилбензидина или стоп-реагента необходимо немедленно смыть их водой с мылом.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Допускается регистрация

результатов только с фильтром 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень (бланк) осуществлять по воздуху).

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

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

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{ср.}} (K^-) + 0,2,$$

где: ОП_{ср.} (K⁻) — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

9.2. Среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ОП_{ср.} (K⁻) не должно превышать 0,25 ед. опт. плотн.

Значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 1,0 ед. опт. плотн.

9.3. Результат анализа считают **положительным**, если ОП_{обр.} ≥ ОП_{крит.};

Результат анализа считают **сомнительным**, если $0,8 \times \text{ОП}_{\text{крит.}} < \text{ОП}_{\text{обр.}} < \text{ОП}_{\text{крит.}}$;

Результат анализа считают **отрицательным**, если $ОП_{обр.} \leq 0,8 \times ОП_{крит.}$;

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

Если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$, то результат анализа исследуемого образца считают положительным, причем необходимо проведение повторного анализа таких сывороток для исключения ложноположительных результатов, обусловленных случайными, несистемными ошибками при постановке анализа.

Если $ОП_{обр.}$ попадает в интервал от $0,8 \times ОП_{крит.}$ до $ОП_{крит.}$, то результат анализа сомнительный. Рекомендуются повторить анализ такой сыворотки. При повторном сомнительном результате необходимо проанализировать сыворотку, полученную через 3–5 дней, параллельно с 1-м образцом сыворотки, на наличие IgM и IgG для выявления сероконверсии и подтверждения факта инфицирования вирусом К-КГЛ.

Если $ОП_{обр.} \leq 0,8 \times ОП_{крит.}$, то результат анализа считают отрицательным, IgM к вирусу К-КГЛ не определены. Но это не означает, что пациент не инфицирован вирусом К-КГЛ. Если кровь взята у больного в начале острой фазы заболевания, IgM в сыворотке крови могут отсутствовать, поэтому при подозрении на наличие инфекции (клинические проявления) рекомендуется исследовать сыворотку, взятую у пациента через 3–5 дней, на наличие IgM повторно.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора – при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя – при температуре от 2 до 8°C. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности – 12 мес. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

По вопросам, касающимся качества набора

«ВектоКрым-КГЛ-IgM»,

следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ»

по адресу:

630559, Новосибирская область,

Новосибирский район,

п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 363-13-46,

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

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

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших

вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с ме-

дицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

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

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

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым

спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

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

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

— Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

— Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

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 крови из соседних лунок.

Для получения правильного рабочего разведения исследуемых сывороток необходимо:

а) при отборе 10 мкл сыворотки для предварительного разведения не погружать нако-

нечник 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.

4. Оценка анализа по коэффициенту позитивности

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно ОП_{крит.} (п. 9.1).

Для расчета коэффициента позитивности образцов использовать формулу:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{обр.}}{ОП_{крит.}}$$

Результат анализа **положительный**, если $КП_{обр.} \geq 1$, где $КП_{обр.}$ – коэффициент позитивности исследуемого образца.

Результат анализа **отрицательный**, если $КП_{обр.} \leq 0,8$.

Результат анализа **сомнительный**, если соответствующее ему значение $КП_{обр.}$ попадает в интервал от 0,8 до 1,0.

Расчет КП целесообразно проводить для оценки концентрации специфических антител класса М в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации IgM к вирусу К-КГЛ в динамике в парных образцах сывороток.

5. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ВектоКрым-КГЛ-IgM»

*Использовать только после тщательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл
предварительно разведенных
анализируемых образцов.
- Инкубировать:** 60 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 90 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора тетраме-
тилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная
длина волны 620–655 нм.

6. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-57-95.

29.02.16.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»
Международные сертификаты
ISO 9001 и ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G, ТТ;
ВИЧ-инфекция; ИППП; TORCH-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

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

БЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
антигена вируса Крымской-Конго
геморрагической лихорадки

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 04.05.2010
Приказом Росздравнадзора № 3681-Пр/10

ВектоКрым-КГЛ-антиген

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-5056

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для выявления вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки в клещах и других вирусосодержащих материалах (культуральной жидкости, секционном материале) методом иммуноферментного анализа и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор реагентов не предназначен для исследования сыворотки и плазмы крови человека и животных.

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 контрольные образцы.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе.

Принцип метода заключается во взаимодействии антигена вируса К-КГЛ из исследуемого материала с антителами, иммобилизованными в лунках полистиролового планшета. Связавшийся антиген выявляют с помощью анти-К-КГЛ-антител, меченных пероксидазой хрена (конъюгат). По завершении постановки теста развивается окрашивание, свидетельствующее о присутствии антигена вируса К-КГЛ в образце (хромогеном

является тетраметилбензидин). Степень окраски пропорциональна концентрации антигена вируса К-КГЛ в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании рассчитанного значения ОП_{крит.} анализируемые образцы оцениваются как положительные или отрицательные.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными поликлональными антителами к вирусу Крымской-Конго геморрагической лихорадки (К-КГЛ) – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (К⁺) – буферный раствор, содержащий инактивированный антиген вируса К-КГЛ – прозрачная красного цвета жидкость – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (К⁻) – буферный раствор, не содержащий антиген вируса К-КГЛ – прозрачная бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость – 1 фл., 3,0 мл;
- конъюгат – поликлональные антитела к К-КГЛ, меченные пероксидазой хрена, готовый для использования – жидкость синего цвета – 1 фл., 13 мл;

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до (30–40)°С – 1 фл., 28 мл;
- раствор для разведения образцов (РРО) – прозрачная бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость – 2 фл. по 25 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность набора, определенная по образцам стандартной панели предприятия, содержащим антиген вируса К-КГЛ (СПП 05-2-231), составляет 100%.

3.2. Специфичность набора, определенная по образцам стандартной панели предприятия, не содержащим антиген вируса К-КГЛ (СПП 05-2-231), составляет 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент (0,5 М раствор серной кислоты) 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.

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

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

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

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

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета 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, поддерживающий температуру от 2 до 8°C ;
- 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;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Приготовление суспензий клещей:

- Клеща обмыть 70% раствором этилового спирта, затем физиологическим раствором с антибиотиками (1000 ед. пенициллина и 500 мг стрептомицина на 1мл среды). Поместить в пробирки типа «Эппендорф» по 1 экземпляру и плотно закрыть.

Допускается хранение клещей до 3 месяцев при температуре не выше -18°C .

- Пробирку с клещом поместить в емкость с жидким азотом и заморозить в течение 20 мин.
- Замороженного клеща осторожно и тщательно растереть в гомогенизаторе или в про-

бирке стеклянной или металлической палочкой (диаметр палочки должен строго соответствовать диаметру дна пробирки).

При многократном использовании палочек, их следует выдерживать в течение 30 мин в 70% растворе этилового спирта, затем промыть дистиллированной водой и высушить.

– В гомогенизатор или в пробирку с растертым клещом добавить 200 мкл раствора для разведения образцов. Тщательно перемешать до получения однородной суспензии.

– Для напитавшихся клещей РРО добавляют 0,5 мл РРО на одного клеща.

– Суспензии центрифугировать в течение 5 мин при 2000 об/мин. Полученные супернатанты использовать для анализа.

Возможно хранение супернатанта не более суток при температуре 2–8°C.

6.2. Приготовление суспензии секционного материала:

– Кусочки секционного материала (головной мозг, печень, селезенка, лимфатические узлы) растереть в фарфоровой ступке пестиком и добавить небольшое количество стеклянного песка. Добавить 4 мл раствора для разведения образцов на 1 г секционного материала. Суспензии центрифугировать в течение 5 мин при 2000 об/мин. Полученные супернатанты использовать для анализа.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. 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 объемов не более 5%.

– Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8°C.

– При промывке лунки (стрипа, планшета) заполнять полностью, 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 с.

– При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть заметного роста микроорганизмов. Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги следует промывать 70% спиртом.

– Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.

– При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

– В случае повторного использования посуды (ванночки) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (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 контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативно-го воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

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

7.2. Приготовление реагентов

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°C в течение 60 мин.

7.2.1. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом со стороны замка, отступив примерно 1 см. 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 от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.2.2. Приготовление контрольных образцов (K⁺, K⁻)

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

7.2.3. Приготовление промывочного раствора

В соответствии с числом стрипов (см. таблицу расхода реагентов) в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл внести необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 и довести до необходимого объема дистиллированной водой, тщательно перемешать до полного растворения. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре (30–40)°C до полного растворения осадка.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C до 5 суток .

7.2.4. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу

расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки утилизировать **(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)**.

7.2.5. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию. Исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина. Непосредственно перед внесением и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Утилизировать раствор тетраметилбензидина, оставшийся в ванночке или флаконе после проведения ИФА **(не сливать во флакон с исходным раствором)**.

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 окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т, концентрат мл	Дистил. 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

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Внести в две лунки, например, А-1 и В-1, по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-) и в одну лунку, например, С-1, – 100 мкл положительного контрольного образца (K^+).

В остальные лунки внести по 100 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешать.

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех лунок планшета.

7.3.2. Планшет заклеить пленкой и инкубировать 60 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.3.3. 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. 7.2.3), 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.

7.3.4. В лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата (п. 7.2.4).

Для внесения раствора конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в комплектацию.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать 60 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.3.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть 5 раз промывочным раствором так, как указано в п. 7.3.3.

7.3.6. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина (см. п. 7.2.5).

*Для внесения раствора тетраметилбензи-
дина использовать пластиковую ванночку и одно-
разовые наконечники, входящие в состав набора.*

Планшет выдержать в защищенном от све-
та месте в течение 25 мин при температуре от 18
до 25°C.

7.3.7. Внести во все лунки с той же скоростью
и в той же последовательности, как и раствор те-
траметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента.

*В случае попадания на кожу раствора
тетраметилбензидина или стоп-реагента не-
обходимо немедленно смыть их водой с мылом.*

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помо-
щью спектрофотометра, измеряя оптическую
плотность (ОП) в двухволновом режиме: основ-
ной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диа-
пазоне 620–650 нм. Допускается регистрация
результатов только с фильтром 450 нм (выве-
дение спектрофотометра на нулевой уровень
(бланк) осуществлять по воздуху).

Время между остановкой реакции и изме-
рением оптической плотности не должно превы-
шать 5 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

9.1. Рассчитать среднее арифметическое
значение оптической плотности в лунках с отри-
цательным контрольным образцом.

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

$$ОП_{\text{крит.}} = ОП_{\text{ср.}}(K^-) + 0,2$$

где: $ОП_{\text{ср.}}(K^-)$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

9.2. Среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом $ОП_{\text{ср.}}(K^-)$ не должно превышать 0,25 ед. опт. плотн.

Значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно быть не менее 1,0 ед. опт. плотн.

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

Результат анализа считают **сомнительным**, если $0,8 \times ОП_{\text{крит.}} < ОП_{\text{обр.}} < ОП_{\text{крит.}}$;

Результат анализа считают **отрицательным**, если $ОП_{\text{обр.}} \leq 0,8 \times ОП_{\text{крит.}}$;

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

Если результат анализа сомнительный, рекомендуется повторить анализ такого образца.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора – при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя – при температуре от 2 до 8°C. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности – 12 мес . Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

**По вопросам, касающимся качества набора
«ВектоКрым-КГЛ-антиген»,**

следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ»

по адресу:

630559, Новосибирская область,

Новосибирский район,

п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 363-13-46,

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные

характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

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

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

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

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

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

4. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ВектоКрым-КГЛ-антиген»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 100 мкл анализируемых образцов.
- Инкубировать:** 60 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 60 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

5. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-57-95.

29.02.16.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»
Международные сертификаты
ISO 9001 и ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G, ТТ;
ВИЧ-инфекция; ИППП; TORCH-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

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