

«УТВЕРЖДАЮ»



Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

марта 2015 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного  
выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С  
для автоматических ИФА-анализаторов

«Бест анти-ВГС-авто»

(комплект 1)

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Бест анти-ВГС-авто» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека и препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа. Рекомендуются для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

1.2. Комплект 1 набора рассчитан на проведение 192 (2x96) анализов, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Набор предназначен для использования в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа. Возможна «ручная» постановка анализа.

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### 2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации смесь пероксидазных конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека связывается с антителами,

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения О.Н. Ястребовой

иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС.

## 2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами вируса гепатита С, готовый для использования – 2 шт.;
- положительный контрольный образец ( $K^+$ ) на основе инаktivированной сыворотки крови человека, содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 2 флакона (по 1,0 мл);
- отрицательный контрольный образец ( $K^-$ ) на основе инаktivированной сыворотки крови человека, не содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 2 флакона (по 1,0 мл);
- конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), концентрат – 2 флакона (по 2,2 мл) или
- конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), готовый для использования – 2 флакона (по 20 мл);
- раствор для разведения конъюгата (РК) (при комплектации набора концентратом конъюгата) – 2 флакона (по 20 мл);
- раствор для разведения сывороток (РС) – 2 флакона (по 16 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 3 флакона (по 28 мл);
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 2 флакона (по 1,5 мл) или
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 2 флакона (по 20 мл);
- субстратный буферный раствор (СБР) (при комплектации набора концентратом ТМБ) – 2 флакона (по 20 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 2 флакона (по 21 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- самоклеящимися этикетками со штрих-кодами для реагентов.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного выявления набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС должен соответствовать требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587): чувствительность по антителам к ВГС – 100%.

3.2. Результат качественного выявления набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС должен соответствовать требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587): специфичность по антителам к ВГС – 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 300 положительных образцах сывороток и плазм крови, взятых от 182 больных гепатитом С в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 98,37%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 336 отрицательных образцах сывороток и плазм крови, взятых от 236 условно здоровых доноров крови, больных гепатитом В и ВИЧ-инфицированных пациентов, показали 100% специфичность (интервал 98,74%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках;

- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98;

- утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- автоматический ИФА-анализатор открытого типа;

- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;

- холодильник бытовой;

- перчатки хирургические;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие растворы.

При «ручной» постановке анализа:

- 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  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ ;
- термошейкер, поддерживающий температуру  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ , интенсивность перемешивания 500-800 об/мин;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости до 350 мкл;
- холодильник бытовой;
- перчатки хирургические;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- промывочное устройство для планшета;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие растворы.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа использовать образцы сыворотки и плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия, гепарина или ЭДТА). Допускается хранение образцов при температуре от 2 до 8 °C не более 5 суток, либо при минус  $(20 \pm 3)^\circ\text{C}$ , если необходимо более длительное хранение.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные образцы сыворотки (плазмы) или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лифофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови, за исклю-

чением препаратов иммуноглобулинов, исследовать неразведенными. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием разводить в 10 раз дистиллированной водой.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

7.1. Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25) °С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре от 2 до 8 °С, использовать в течение всего срока годности.

Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием или перед загрузкой реагентов на борт автоматического ИФА-анализатора. Исключить воздействие света на раствор ТМБ.

При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

Необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Тх25; СБР; стоп-реагент, ТМБ, концентрат; раствор ТМБ), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.

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

Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

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

## **7.2. Приготовление реагентов**

### **7.2.1. Промывочный раствор**

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Тх25. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °С до полного растворения осадка.

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Тх25 развести дистиллированной водой до 700 мл.

Хранение: Промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре от 18 до 25 °С не более 7 дней; 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

### **7.2.2. Контрольные образцы**

Контрольные образцы  $K^+$  и  $K^-$  готовы к использованию.

Хранение: Контрольные образцы после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

**7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении (при комплектации набора концентратом конъюгата).**

Готовить непосредственно перед использованием или перед загрузкой реагентов на борт автоматического ИФА-анализатора.

Тщательно взболтать содержимое флаконов с раствором для разведения конъюгата (РК), концентратом конъюгата. К содержимому флакона с РК добавить 2,0 мл концентрата конъюгата и перемешать. Раствор конъюгата в рабочем разведении должен иметь равномерное окрашивание.

При дробном использовании планшета в чистый флакон отобрать запрашиваемый ИФА-анализатором (исходя из количества исследуемых образцов) объем РК, добавить концентрат конъюгата из расчета 100 мкл на 1 мл РК. Тщательно перемешать.

Раствор конъюгата в рабочем разведении должен иметь равномерное окрашивание.

Хранение: Раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С. Концентрат конъюгата после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

При комплектации набора готовым к использованию конъюгатом тщательно перемешать содержимое флакона.

**Хранение:** Конъюгат, готовый для использования после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.4. Приготовление раствора тетраметилбензидина в рабочем разведении (при комплектации набора концентратом ТМБ).

**Внимание!** Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед загрузкой реагентов на борт автоматического ИФА анализатора.

Во флакон с СБР внести 1,0 мл концентрата ТМБ и тщательно перемешать.

При дробном использовании планшета в чистый флакон отобрать запрашиваемый ИФА-анализатором (исходя из количества исследуемых образцов) объем СБР, добавить концентрат ТМБ из расчета 50 мкл на 1 мл СБР. Тщательно перемешать.

**Хранение:** Раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С. Концентрат ТМБ после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

При комплектации набора готовым к использованию раствором ТМБ тщательно перемешать содержимое флакона.

**Хранение:** Раствор ТМБ, готовый для использования после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

**Хранение:** Стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

### 7.3. Проведение анализа

7.3.1. Внести данные в «Рабочий лист» автоматического ИФА-анализатора с учётом выбранной процедуры (п. 7.3.5) и количества планируемых к постановке образцов.

7.3.2. Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1.), раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.3) (при комплектации набора концентратом конъюгата) и раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.4) (при комплектации набора концентратом ТМБ).

Все растворы должны быть комнатной температуры (18- 25) °С.

7.3.3. Промывочный раствор залить в соответствующий контейнер автоматического ИФА-анализатора. Планшет, емкости с контрольными и исследуемыми образцами, раствором конъюгата в рабочем разведении (при комплектации набора концентратом конъюгата) или конъюгатом, раствором ТМБ в рабочем разведении (при комплектации набора концентратом ТМБ) или раствором ТМБ, стоп-реагентом разместить на борту ИФА-анализатора. При ис-

пользовании программы автоматической идентификации предварительно наклеить соответствующие этикетки со штрих-кодами на флаконы с компонентами.

7.3.4. Во все лунки стрипов внести по 60 мкл раствора для разведения сывороток (РС). В 2 лунки планшета внести по 40 мкл положительного контрольного образца ( $K^+$ ), в 2 лунки – по 40 мкл отрицательного контрольного образца ( $K^-$ ), в остальные лунки – по 40 мкл исследуемых образцов.

**Внимание!** В протокол программы ИФА-анализатора после внесения исследуемых образцов необходимо включить стадию шейкирования в течение 1 мин.

*Спектрофотометрический контроль внесения образцов (контролей) в лунки с РС. При длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих РС и исследуемый образец должна быть больше 0,400 о.е.*

7.3.5. Планшет инкубировать в соответствии с одной из процедур:

процедура 1 – 30 мин при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ , шейкер (500 об./мин);

процедура 2 – 1 час при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ , термостат.

7.3.6. По окончании инкубации промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.1), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа.

**Внимание!** Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл рабочего промывочного раствора в режиме «*overflow*» – избыточной промывки). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

По окончании промывки необходимо использовать перекрестную аспирацию раствора из лунок (режим «*cross aspiration*»).

Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.7. В каждую лунку внести по 100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении или готового к использованию конъюгата.

*Спектрофотометрический контроль внесения в лунки планшета раствора конъюгата в рабочем разведении или конъюгата, готового для использования. При длине волны 620 нм. оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих конъюгат должна быть больше 0,120 о.е.*

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

7.3.8. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз промывочным раствором и удалить влагу как описано выше (п. 7.3.6).

7.3.9. Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении или готового раствора ТМБ.

Планшет инкубировать в защищенном от света месте 30 мин при температуре (18–25) °С.

7.3.10. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (ОП).

*Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.*

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

## 9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОПК<sup>-</sup>) не более 0,2;
- значения оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом (ОПК<sup>+</sup>) не менее 0,8.

По результатам ИФА рассчитать критическое значение оптической плотности (ОП<sub>крит</sub>) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{срК}^-} + 0,2,$$

где ОП<sub>срК<sup>-</sup></sub> — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Для каждого исследуемого образца рассчитать коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$\text{КП} = \text{ОП}_{\text{иссл. обр.}} / \text{ОП}_{\text{крит}}$$

где ОП<sub>иссл. обр</sub> — оптическая плотность в лунках с исследуемыми образцами.

Если ОП<sub>К<sup>-</sup></sub> и ОП<sub>иссл. обр</sub> имеют отрицательные значения, при расчёте ОП<sub>крит</sub> и анализе результатов считать их равными нулю.

Исследуемый образец расценивают как отрицательный, если соответствующее ему значение КП меньше 1 (КП < 1). Исследуемый образец расценивают как положительный, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 (КП ≥ 1).

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С.

Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора;

- положительный и отрицательный контрольные образцы, концентрат конъюгата, конъюгат, готовый для использования, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, готовый для использования, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора;

- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре от 18 до 25 °С не более 7 дней;

- раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С;

- раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре от 18 до 25 °С.

## 11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

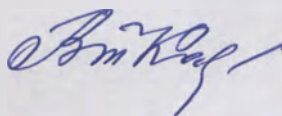
11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления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

По вопросам, касающимся качества набора «Бест анти-ВГС-авто» (комплект 1) обращаться:  
630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,  
тел. (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: [plkobtk@vector-best.ru](mailto:plkobtk@vector-best.ru)

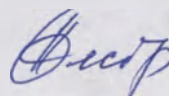
Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел. (383) 332-94-39.

Директор по производству  
ЗАО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

Нач. отделения ИФА гепатита С  
ЗАО «Вектор-Бест»



О.Н. Ястребова

Зам. директора по научной работе ГБУЗ МО  
«Московский областной научно-исследовательский  
клинический институт им. М.Ф. Владимирского»  
д.м.н., профессор



А.В. Молочков



Всего прошито, пронумеровано и  
скреплено печатью \_\_\_\_\_ листов.  
Зав. лабораторией "СПИД" ГБУЗ МО  
МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского

\_\_\_\_\_ Кудрявцева Е.Н.



УДАЛИТЬ  
DELETE

«УТВЕРЖДАЮ»



Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

19 марта 2015 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного  
выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С  
для автоматических ИФА-анализаторов

**«Бест анти-ВГС-авто»**

**(комплект 2/Чароит)**

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Бест анти-ВГС-авто» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека и препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа. Рекомендуются для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

1.2. Комплект 2/Чароит набора рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Набор предназначен для использования в автоматическом ИФА-анализаторе «Чароит».

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### 2.1. Принцип действия

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными белками, иммобили-

---

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения О.Н. Ястребовой

зованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации смесь пероксидазных конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека связывается с антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реактанта и измеряют оптическую плотность растворов в лунках в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВГС.

## 2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами вируса гепатита С, готовый для использования – 1 шт.;

- положительный контрольный образец ( $K^+$ ) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

- отрицательный контрольный образец ( $K^-$ ) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий антитела к ВГС, готовый для использования – 1 флакон (1,0 мл);

- конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), концентрат – 1 флакон (2,2 мл) или

- конъюгат (смесь антител к IgG и IgM человека, меченных пероксидазой хрена), готовый для использования – 1 флакон (20 мл);

- раствор для разведения конъюгата (РК) (при комплектации набора концентратом конъюгата) – 1 флакон (20 мл);

- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 флакон (16 мл);

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 флакона (по 28 мл);

- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 флакон (1,5 мл) или

- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 флакон (20 мл);

- субстратный буферный раствор (СБР) (при комплектации набора концентратом ТМБ) – 1 флакон (20 мл);

- стоп-реактент, готовый для использования – 1 флакон (21 мл);

- штатив с двухмерным штрих-кодом для флаконов с компонентами – 1 шт;

–штатив для крышек – 1 шт.

Набор дополнительно комплектуется:

– схемой расположения флаконов в штативе.

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

3.1. Результат качественного выявления набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС должен соответствовать требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587): чувствительность по антителам к ВГС – 100%.

3.2. Результат качественного выявления набором иммуноглобулинов классов G и M к ВГС должен соответствовать требованиям стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С («Анти-ВГС стандартная панель сывороток» РУ № РЗН 2013/587): специфичность по антителам к ВГС – 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 300 положительных образцах сывороток и плазм крови, взятых от 182 больных гепатитом С в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 98,37%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 336 отрицательных образцах сывороток и плазм крови, взятых от 236 условно здоровых доноров крови, больных гепатитом В и ВИЧ-инфицированных пациентов, показали 100% специфичность (интервал 98,74%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

### **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

– работать в резиновых перчатках;

– все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98;

– утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дез-

инфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- автоматический ИФА анализатор «Чароит»;
- холодильник бытовой;
- перчатки хирургические;
- цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие растворы.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа использовать образцы сыворотки и плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия, гепарина или ЭДТА). Допускается хранение образцов при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные образцы сыворотки (плазмы) или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови, за исключением препаратов иммуноглобулинов, исследовать неразведенными. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием разводить в 10 раз дистиллированной водой.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

*7.1. Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25)°С.

После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре от 2 до 8 °С, использовать в течение всего срока годности набора.

Необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом

При дробном использовании набора нельзя использовать компоненты из разных наборов даже одной серии или смешивать их при объединении остатков набора, поскольку автомат контролирует использованный объем раствора.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

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

## 7.2. Приготовление реагентов

### 7.2.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Тх25. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °С до полного растворения осадка.

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Тх25 развести дистиллированной водой до 700 мл.

**Хранение:** Промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре от 18 до 25 °С не более 7 дней; 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

## 7.3. Проведение анализа

7.3.1. Открыть коробку и оставить все компоненты набора реагентов для прогрева до комнатной температуры (18–25) °С в течение 30 мин.

7.3.2. Вскрыть флаконы с компонентами, сохраняя их расположение в штативе (см. схему расположения флаконов в штативе). Крышки разместить в гнездах штатива для крышек в точном соответствии с расположением соответствующих флаконов.

**Внимание!** Категорически запрещено менять места расположения флаконов с реактивами в штативе!

7.3.3. На штатив с крышками сверху надеть штатив с флаконами таким образом, чтобы три боковых паза верхнего штатива (с флаконами) оказались на той же стороне, что

и три боковых паза нижнего штатива (с крышками). Поместить эту конструкцию в «картридж штатива для реагентов» автоматического ИФА анализатора «Чароит», таким образом, чтобы сторона со штрих-кодами располагалась в большом окошке картриджа (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п.1.2).

7.3.4. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре от 2 до 8 °C в течение всего срока годности набора.

7.3.5. Планшет с необходимым для работы количеством стрипов поместить в рамку-держатель планшетов, в точном соответствии с маркировкой рамки-держателя (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п.1.4).

7.3.6. Подготовить прибор к работе, как описано в Руководстве по эксплуатации автоматического иммуноферментного анализатора «Чароит».

7.3.7. Перелить готовый промывочный раствор в любую из ёмкостей анализатора с маркировкой А, В, С и D, соответственно. По запросу прибора указать, в какой именно ёмкости (маркировка) находится промывочный раствор.

**Внимание!** Категорически запрещено заливать промывочный раствор в ёмкость с маркировкой E, предназначенную для моющего раствора!

7.3.8. Загрузить в прибор штативы с исследуемыми образцами.

7.3.9. Установить в анализатор картридж с реагентами, рамку-держатель с планшетом и необходимые расходные материалы: штативы с наконечниками для образцов, наконечники для реагентов, контейнеры для перемешивания реагентов (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 4.5).

7.3.10. Все дальнейшие манипуляции проводить в полном соответствии с Руководством по эксплуатации прибора «Чароит».

7.3.11. По окончании работы, в случае дробного использования набора, флаконы с неизрасходованными реагентами плотно закрыть соответствующими крышками и хранить при температуре (2–8) °C.

8. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОТОКОЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

8.1. Схема ИФА

| Действие                                                       | Характеристика |
|----------------------------------------------------------------|----------------|
| Прогрев компонентов набора до комнатной температуры (18-25) °C | 30 мин         |

|                                                                                            |                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Подготовка промывочного раствора                                                           | п.7.2.                                                                          |
| Внесение раствора для разведения сыворотки                                                 | по 60 мкл в лунку                                                               |
| Внесение контрольных и исследуемых образцов                                                | по 40 мкл в лунку                                                               |
| Перемешивание образцов с раствором для разведения образцов                                 | 1 мин, шейкирование                                                             |
| Спектрофотометрический контроль внесения образцов                                          | спектрофотометрирование 620 нм, ОП в лунках с внесенными образцами > 0,400 о.е. |
| Инкубация                                                                                  | 30 мин, 37°C, 500 об/мин или 1 час, 37°C                                        |
| Промывка планшета                                                                          | 5 раз промывочным раствором                                                     |
| Подготовка конъюгата в рабочем разведении                                                  | п. 8.2.                                                                         |
| Внесение раствора конъюгата в рабочем разведении или конъюгата, готового для использования | по 100 мкл в каждую лунку                                                       |
| Спектрофотометрический контроль внесения конъюгата                                         | спектрофотометрирование 620 нм, ОП > 0,120 о.е.                                 |
| Инкубация                                                                                  | 30 мин, 37°C                                                                    |
| Промывка планшета                                                                          | 5 раз промывочным раствором                                                     |
| Подготовка ТМБ в рабочем разведении                                                        | п. 8.2.                                                                         |
| Внесение раствора ТМБ в рабочем разведении или раствора ТМБ, готового для использования    | по 100 мкл в лунку                                                              |
| Инкубация                                                                                  | в темном месте 30 мин, (18-25) °C                                               |
| Внесение стоп-реагента                                                                     | по 100 мкл в лунку                                                              |
| Регистрация результатов                                                                    | спектрофотометрирование 450 нм против 620 нм                                    |
| Оценка результатов                                                                         | п. 9.                                                                           |

## 8.2. Приготовление реагентов

| Реагент в рабочем разведении           | Концентрат реагента                                                 | Разводящий раствор                                  | Соотношение частей концентрата и разводящего раствора |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Промывочный раствор                    | Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) | Дистиллированная вода, отсутствует в составе набора | 1+24                                                  |
| Раствор конъюгата в рабочем разведении | Концентрат конъюгата                                                | Раствор для разведения конъюгата (РК)               | 1+10                                                  |
| Раствор ТМБ в рабочем разведении       | Концентрат ТМБ                                                      | Субстратный буферный раствор (СБР)                  | 1+20                                                  |

## 8.3. Внесение реагентов:

| Наименование                                                                   | Количество лунок                                     | Объем в лунке                                                                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Раствор для разведения сывороток                                               | Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами | 60 мкл                                                                                                                                        |
| Отрицательный контрольный образец, K <sup>-</sup>                              | 2                                                    | 40 мкл                                                                                                                                        |
| Положительный контрольный образец, K <sup>+</sup>                              | 2                                                    | 40 мкл                                                                                                                                        |
| Исследуемый образец                                                            | 1                                                    | 40 мкл                                                                                                                                        |
| Промывочный раствор                                                            | Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами | 5 раз по 400 мкл, режим overflow, крестообразное отсасывание, остаточный объем ≤ 10мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек |
| Раствор конъюгата в рабочем разведении или конъюгат, готовый для использования | Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами | 100 мкл                                                                                                                                       |
| Раствор ТМБ в рабочем разведении или раствор ТМБ, готовый для использования    | Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами | 100 мкл                                                                                                                                       |
| Стоп-реагент                                                                   | Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами | 100 мкл                                                                                                                                       |

8.4. Процедуры ИФА

|                                 |                                                                          |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Инкубация с образцами           | процедура 1 – 30 мин при температуре (37±1) °С, шейкирование 500 об./мин |
|                                 | процедура 2 – 1 час при температуре (37±1) °С без шейкирования           |
| Инкубация с раствором конъюгата | 30 мин при температуре (37±1) °С без шейкирования                        |
| Инкубация с раствором ТМБ       | 30 мин при температуре (18-25) °С без шейкирования                       |

8.5. Учёт результатов реакции

| Объект измерения оптической плотности (ОП) | Формулы и условия правильности ИФА      |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------|
| ОП K <sup>-</sup>                          | < 0,20 о.е.                             |
| ОП <sub>крит</sub>                         | = 0,2 + ОП <sub>ср</sub> K <sup>-</sup> |
| ОП K <sup>+</sup>                          | ≥ 0,8 о.е.                              |

Если хотя бы одно из условий, перечисленных выше, не выполняется, необходимо найти ошибку, устранить и провести анализ повторно.

## 9. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Для каждого исследуемого образца рассчитать коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{иссл. обр.} / ОП_{крит.}$$

где ОП<sub>иссл. обр.</sub> – оптическая плотность в лунках с исследуемыми образцами.

Если ОП<sub>К</sub> и ОП<sub>иссл. обр.</sub> имеют отрицательные значения, при расчёте ОП<sub>крит.</sub> и анализе результатов считать их равными нулю. Исследуемый образец расценивают как отрицательный, если соответствующее ему значение КП меньше 1 (КП < 1). Исследуемый образец расценивают как положительный, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 (КП ≥ 1).

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора;

- положительный и отрицательный контрольные образцы, концентрат конъюгата, конъюгат, готовый для использования, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, готовый для использования, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора;

- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней;

- раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от света месте при температуре (18-25) °С;

- раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-25) °С.

## 11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

11.3. 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.

По вопросам, касающимся качества набора «Бест анти-ВГС-авто» (комплект 2/Чароит) обращаться:

630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: [plkobtk@vector-best.ru](mailto:plkobtk@vector-best.ru)

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел. (383) 332-94-39.

Директор по производству

ЗАО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Нач. отделения ИФА гепатита С

ЗАО «Вектор-Бест»

О.Н. Ястребова

Зам. директора по научной работе ГБУЗ МО

«Московский областной научно-исследовательский  
клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

д.м.н., профессор



А.В. Молочков

Всего прошито, пронумеровано и  
скреплено печатью 10 листов.  
Зав. лабораторией "СПИД" ГБУЗ МО  
МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского

Кудрявцева Е.Н.

