



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
Полынцев Д.Г.
« » 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Набора реагентов с принадлежностями для качественного и количественного иммуноферментного определения иммуноглобулинов G к *Herpes simplex* 1 типа в сыворотке и плазме крови человека «ГерпесИФА-1IgG»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ГерпесИФА-1IgG» предназначен для качественного и количественного определения иммуно-глобулинов класса G к вирусу простого герпеса первого типа в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) относится к семейству герпесвирусов (ГВ), к которому также принадлежат вирус простого герпеса 2 типа (ВПГ-2), вирус ветряной оспы (*Varicella zoster* или ГВ 3 типа), вирус Эпштейна-Барра (ГВ 4 типа), цитомегаловирус (ГВ 5 типа), а также розеоновирусы (ГВ 6 и 7 типов) и вирус герпеса, ассоциированный с саркомой Капоши (ГВ 8 типа). Семейство относится к ДНК-содержащим вирусам.

ВПГ-1 обладает высокой контагиозностью, передается через прямой и непрямой контакт. Герпетическая инфекция клинически проявляется высыпаниями на губах и в орбитальной области, а также герпетической экземой. В ряде случаев, чаще всего у лиц с иммунодефицитными состояниями, наблюдаются и тяжелые генерализованные формы инфекции. Особенно опасно инфицирование во время беременности, которое может привести к врожденным порокам развития плода. Выявление специфических антител против ВПГ-1 играет существенную роль при постановке диагноза при первичном инфицировании или реактивации латентной инфекции. Особенно это важно при наблюдении пациентов, относящихся к группам риска (например, беременные или лица с иммунодефицитными состояниями).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

В наборе «ГерпесИФА-1IgG» использован вариант двустадийного твердофазного иммуноферментного анализа. Если в образце присутствуют иммуноглобулины класса G к ВПГ-1, то во время первой инкубации они связываются с антигеном ВПГ-1, иммобилизованным на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок).

Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой. Во время второй инкубации антитела к иммуноглобулинам G человека, меченые пероксидазой хрена, взаимодействуют с образовавшимся на первой стадии комплексом «антиген – антитело». Количество связанного с твердой фазой конъюгата прямо пропорционально количеству специфических иммуноглобулинов G в исследуемом образце (Рисунок 1).

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание растворов в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации IgG к ВПГ-1 в контрольных и анализируемых пробах.

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация IgG к ВПГ-1 в исследуемых образцах. В случае проведения качественного анализа наличие IgG к ВПГ-1 оценивают относительно значения ОП крит.

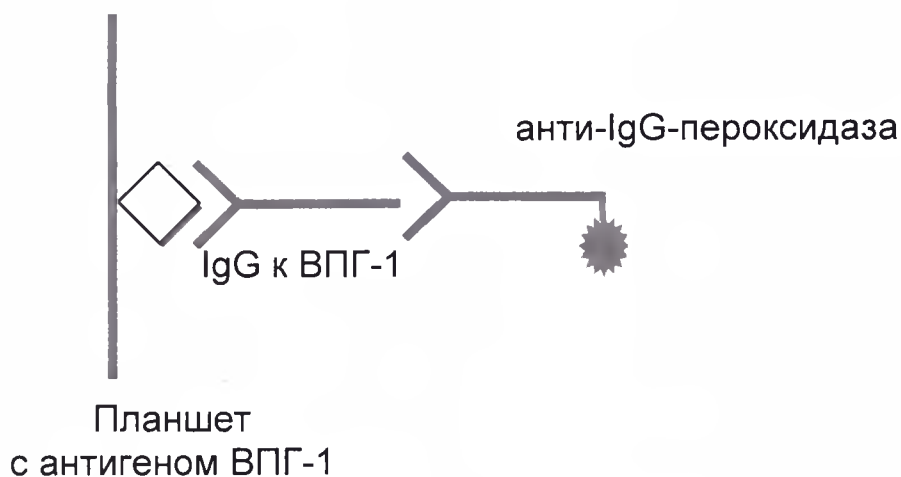


Рисунок 1.Схема анализа

2.2. Состав набора

Набор «ГерпесИФА-1IgG» выпускается в двух комплектациях¹:

Комплектация №1: на 96 определений при проведении анализа вручную или на автоматическом анализаторе «Alisei Q.S.» SEAC, Италия (далее «Alisei»), что соответствует количественному анализу

¹ Допускается постановка анализа на других автоматических анализаторах для ИФА открытого типа, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора «ГерпесИФА-1IgG» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: (812) 677-8779.

дубликатах 40 неизвестных проб или в монопликатах 88 неизвестных проб, либо качественного анализа в дубликатах 44 неизвестных проб или в монопликатах 92 неизвестных проб при использовании всего комплекта стрипов одновременно.

Комплектация №2: на 192 определения при проведении анализа вручную или на автоматическом анализаторе «Alisei», что соответствует в дубликатах 80 неизвестных проб или в монопликатах 176 неизвестных проб, либо качественного анализа в дубликатах 88 неизвестных проб или в монопликатах 184 неизвестных проб при использовании всего комплекта стрипов одновременно.

Обратите внимание, при каждой постановке анализа обязательно нужно определять:

- в количественном анализе: оптические плотности (ОП) калибровочных проб и раствора ТМБ в соответствии со схемой маркировки лунок (п. 7.2.1.1.).
- в качественном анализе: оптические плотности калибровочной пробы №1 (отрицательный контроль), калибровочной пробы №2 (контроль cut-off), калибровочной пробы №6 (положительный контроль) и раствора ТМБ в соответствии со схемой маркировки лунок (п.7.2.1.1.).

Примечание: в случае дробного применения набор может быть использован только в течение шести месяцев после вскрытия компонентов набора.

Основной состав:

- комплект из двенадцати 8-луночных стрипов в рамке с иммобилизованным на внутренней поверхности лунок инактивированным антигеном ВПГ-1, маркирован «Стрипы с инактивированным антигеном ВПГ-1» – 1 или 2 упаковки в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- калибровочные пробы (КП), содержащие известные количества IgG к ВПГ-1. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций IgG к ВПГ-1 в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов и в паспорте набора реагентов – 8 флаконов (жидкости по 2 мл);
- контрольная сыворотка с известным содержанием IgG к ВПГ-1, маркирована «Контрольная сыворотка» — 2 флакона (жидкости по 2 мл);

Примечание: дополнительные флаконы калибровочных проб №2, №5 и контрольной сыворотки предназначены для рекалибрации по референсной калибровочной кривой при постановке на анализаторе «Alisei». За более подробной информацией обращайтесь к инструкции к анализатору «Alisei».

- конъюгат анти-IgG-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е» — 1 флакон (28 мл);
- водно-солевой раствор для разведения образцов, маркирован «Буфер В» — 1 или 2 флакона (по 100 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- аналитический водно-солевой раствор, маркирован «Буфер А» — 1 флакон (45 мл);
- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер S (20X)» (допускается наличие прозрачных кристаллов, исчезающих при кратковременном прогревании до +37°C) — 2 или 3 флакона (по 50 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ» — 1 или 2 флакона (по 14 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- стоп-реагент [3,59% раствор соляной кислоты (ГОСТ 3118-77, ГОСТ 14261-77)], маркирован «Стоп-реагент» — 2 или 3 флакона (по 19 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1).

Принадлежности:*

- пакет закрывающийся полиэтиленовый (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена).
- одноразовая ванночка – 2 шт.;
- одноразовый наконечник – 16 шт.;
- Буфер S (20X) для автоматических промывочных устройств — 1 флакон (250 мл);

- Буфер S (20X) для автоматических промывочных устройств —1 флакон (500 мл);
 - Буфер S (20X) для автоматических промывочных устройств — 1 флакон (1000 мл).
- * состав поставляемых с набором принадлежностей определяется заказчиком.**

Таблица 1

Кат. номер	200-20	200-43
Название компонента	Комплектация №1	Комплектация №2
Комплект стрипов в рамке	1 шт	2 шт
Комплект калибровочных проб	8 фл по 2 мл	8 фл по 2 мл
Контрольная сыворотка	2 фл по 2 мл	2 фл по 2 мл
Конъюгат Е	1 фл – 28 мл	1 фл - 28 мл
Буфер А	1 фл – 45 мл	1 фл - 45 мл
Буфер В	1 фл – 100 мл	2 фл по 100 мл
Буфер S (20X)	2 фл по 50 мл	3 фл по 50 мл
Раствор ТМБ	1 фл - 14 мл	2 фл по 14 мл
Стоп-реагент	2 фл по 19 мл	3 фл по 19 мл

3.1. Коэффициент вариации результатов определения IgG к ВПГ-1 в одном и том же образце с использованием набора «ГерпесИФА-1IgG» не превышает 8%.

3.2. Линейность. Зависимость концентрации IgG к ВПГ-1 в образцах при разведении их буфером В имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №2-№6 и составляет 90-110%.

3.3. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» IgG к ВПГ-1 — проверка соответствия значения определяемой концентрации IgG к ВПГ-1 расчетной величине, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы №3. Процент открытия составляет 90–110%.

3.4. Аналитическая чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация IgG к ВПГ-1 в сыворотке и плазме крови человека не превышает 2 Ед/мл.

3.5. Диагностическая специфичность. Для определения диагностической специфичности данного метода были исследованы 89 образцов от пациентов, не имеющих антител к ВПГ-1. Диагностическая специфичность набора «ГерпесИФА-1IgG» составляет 98,9%.

3.6. Диагностическая чувствительность. Для определения диагностической чувствительности метода были исследованы 192 образца, полученные от пациентов, имеющих антитела к ВПГ-1. Диагностическая чувствительность набора «ГерпесИФА-1IgG» составляет 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2б (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.).

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.4. Допускать к работе с набором только специально обученный персонал.

4.5. Перед началом работы ознакомиться с инструкцией и применять набор строго по назначению.

4.6. Стоп-реагент представляет собой 3,59% раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.7. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, разрешенные на территории РФ, т.к. производные крови, входящие в состав набора, и исследуемые образцы являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

4.8. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно. Поскольку ИФА чувствителен к ионам металлов, контакт металлических предметов с компонентами набора недопустим.

4.9. Для обработки посуды и оборудования рекомендуется использовать дезинфицирующие средства на основе третичных аминов, четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) или спиртов и разрешенные к применению на территории РФ. Использование дезинфицирующих средств на основе активного кислорода и хлора возможно лишь на предстерилизационном этапе, с последующей термической стерилизацией.

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

4.11. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

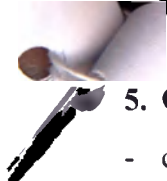
4.12. Удалять неиспользованные реактивы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.13. Все использованные одноразовые материалы и остатки образцов должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СП 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».

4.14. После использования стрипы, калибраторы, контроли, образцы и все расходные материалы, которые контактировали с образцами во время обработки, хранения или анализа (флаконы, перчатки, наконечники и т.д.) должны собираться отдельно и стерилизоваться в автоклаве с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10. Вместо автоклавирования наконечники могут быть стерилизованы дезинфицирующим средством, после утилизированы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

4.15. Во время процедуры ручной промывки планшета содержимое лунок необходимо удалить в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов.

4.16. Не использовать набор по истечении срока годности.



5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн 450 и 405 нм²;
- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 500–800 об/мин при температуре +37°C²;
- автоматическое промывочное устройство (вошер) для иммунологических планшетов^{2, 3};
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными одноразовыми наконечниками⁴ с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 20–200 мкл; на 100–1000 мкл; на 1000–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными одноразовыми наконечниками⁴, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 50-500 мл;
- стакан стеклянный подходящего объема;
- вода дистиллированная или очищенная деионизованная⁵;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- дезинфицирующий раствор на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов;
- контейнер для дезинфекции;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.

Дополнительно для проведения анализа в термостате:

- термостат, поддерживающий температуру +37°C².

Дополнительно для проведения анализа на анализаторе «Alisei»:

- автоматический иммуноферментный анализатор «Alisei»²;
- многоцелевые полипропиленовые пробирки 12х75⁶ вместимостью 5 мл;
- концентрированный раствор Триала⁶, 5000-кратный концентрат, маркирован «Триал».

² Допускается использование автоматических анализаторов для ИФА открытого типа с аналогичными характеристиками, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора «ГонадотропинИФА-ФСГ» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: (812) 677-8779

³ При использовании автоматического промывочного устройства необходимо тщательно следить за его состоянием, периодически проверять емкости и соединительные шланги для промывочных буферов на наличие микробиологического зароста и других загрязнений, проводить техническое обслуживание в соответствии с рекомендациями производителя оборудования

⁴ Повторное использование наконечников не допускается. При внесении каждого образца необходимо использовать новый наконечник

⁵ В соответствии с ГОСТ 6709-72 «Вода дистиллированная. Технические условия» необходимо периодически контролировать качество воды, используемой для приготовления растворов

⁶ Компоненты, не входящие в состав набора; поставляются по отдельному заказу

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. Забор крови для получения плазмы осуществляют в пробирку, содержащую антикоагулянт (цитрат натрия, гепарин или ЭДТА). После центрифугирования сыворотку или плазму переносят в отдельную пробирку.

6.2. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированные или мутные сыворотку и плазму, а также образцы сыворотки, содержащие азид натрия.

6.3. Образцы сыворотки и плазмы крови разрешается хранить при температуре +2...8°C не более 6-ти суток; при необходимости более длительного хранения рекомендуется аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре -20°C и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

6.4. Перед проведением анализа вручную все исследуемые образцы (за исключением калибровочных проб и контрольной сыворотки) должны быть разведены буфером В в 101 раз (см. п.7.1.11.1). Перед проведением анализа на автоматическом анализаторе «Alisei» все исследуемые образцы (за исключением калибровочных проб и контрольной сыворотки) должны быть разведены буфером В в 40 раз (см. п.7.1.11.2). Хранение разведенных образцов не допускается. При повторном исследовании тех же образцов сыворотки крови необходимо приготовить новое разведение.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов

7.1.1. Стрипы. Перед вскрытием пакет со стрипами необходимо выдержать при комнатной температуре (+18...25°C) не менее 30 минут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

7.1.2. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

7.1.3. Конъюгат Е готов к использованию.

7.1.4. Буфер А готов к использованию.

7.1.5. Буфер В готов к использованию.

7.1.6. Промывочный раствор. Необходимое количество буфера S развести дистиллированной или очищенной деионизованной водой в 20 раз.

Например: 50 мл буфера S + 950 мл воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.7. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию.

7.1.8. Стоп-реагент готов к использованию.

7.1.9. Рабочий раствор Триала. Необходимое количество концентрированного раствора Триала развести дистиллированной или очищенной деионизованной водой в 5000 раз.

Например: 1 мл Триала + 4999 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.10. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры (+18...25°C).

7.1.11. Предварительное разведение исследуемых образцов.

7.1.11.1. Перед проведением анализа вручную все исследуемые образцы (за исключением калибровочных проб и контрольной сыворотки) должны быть разведены буфером В в 101 раз. Пример подготовки образца к анализу:

1000 мкл буфера В + 10 мкл исследуемого образца.

При каждом разведении необходимо тщательное перемешивание.

7.1.11.2. Перед проведением анализа на автоматическом анализаторе «Alisei» все исследуемые образцы (за исключением калибровочных проб и контрольной сыворотки) должны быть разведены буфером В в 40 раз. Пример подготовки образца к анализу вручную:

390 мкл буфера В + 10 мкл исследуемого образца.

При каждом разведении необходимо тщательное перемешивание.

Примечание: дополнительное предварительное разведение образцов заложено в программе определения концентрации IgG к ВПГ-1 анализатора «Alisei».

7.2. Постановка анализа

7.2.1. Ручная постановка

На страницах 30 и 31 приведены схемы проведения количественного и качественного анализов соответственно.

7.2.1.1. Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

7.2.1.2.

Количественный анализ:

A1, A2 – № 1 - для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;

B1, B2 – № 2 - для измерения величины оптической плотности КП №1;

C1, C2 – № 3 - для измерения величины оптической плотности КП №2;

D1, D2 – № 4 - для измерения величины оптической плотности КП №3;

E1, E2 – № 5 - для измерения величины оптической плотности КП №4;

F1, F2 – № 6 - для измерения величины оптической плотности КП №5;

G1, G2 – № 7 - для измерения величины оптической плотности КП №6;

H1, H2 – № 8 - для измерения величины оптической плотности контрольной сыворотки.

Примечание: в наборе «ГерпесИФА-IgG» рекомендовано проведение анализа в дубликатах, что позволяет уменьшить вероятность ошибок в процессе проведения анализа и получить более достоверные результаты. Однако допускается раскапывание образцов, контрольных проб и контрольной сыворотки в монопликатах при условиях своевременной поверки и обслуживания измерительного и промывочного оборудования, что позволяет свести к минимуму их негативное влияние на результаты исследования в случае их неисправности.

Качественный анализ:

A1, A2 – № 1 - для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;

B1, B2 – № 2 - для измерения величины оптической плотности КП №1 (отрицательный контроль);

C1, C2 – № 3 - для измерения величины оптической плотности КП №2 (контроль cut-off);

D1, D2 – № 4 - для измерения величины оптической плотности КП №6 (положительный контроль).

7.2.1.3. Во все лунки, кроме лунок A1 и A2, внести по 100 мкл буфера А.

Внести в соответствующие лунки по 50 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки - по 50 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов в дубликатах.

Примечание: общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых сывороток крови не должно превышать 15 минут, иначе время инкубации различных образцов будет значительно различаться, что приведет к неправильным результатам.

7.2.1.4. Инкубировать стрипы. Возможны 2 варианта инкубации:

- в течение 45 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре +37°C со скоростью 500–800 об/мин
- в течение 45 минут в термостате при температуре +37°C без шейкирования (предварительно встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 1-2 минуты при комнатной температуре).

7.2.1.5. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов и промыть лунки 4 раза. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по п. 7.1.6., встряхнуть рамку на шейкере в течение 5-10 секунд с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства.

7.2.1.6. Внести во все лунки, кроме лунок A1 и A2, по 100 мкл конъюгата Е.

7.2.1.7. Инкубировать стрипы. Возможны 2 варианта инкубации:

- в течение 30 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре +37°C со скоростью 500–800 об/мин
- в течение 90 минут в термостате при температуре +37°C без шейкирования (предварительно встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 1-2 минуты при комнатной температуре).

7.2.1.8. По окончании инкубации удалить содержимое лунок декантированием и промыть лунки согласно п. 7.2.1.4.

7.2.1.9. Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ.

7.2.1.10. Инкубировать стрипы. Возможны 2 варианта инкубации с ТМБ:

- Инкубирование стрипов в темноте в течение 10 минут при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре +37°C со скоростью 500–800 об/мин.
- Инкубирование стрипов в течение 15-30 минут в темноте без шейкирования при комнатной температуре (+18...+25°C).

7.2.1.11. Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 1–2 минут при комнатной температуре (+18...25°C).

7.2.1.12. Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения п. 7.2.1.10., то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при комнатной температуре.

Примечание: максимальная оптическая плотность не должна превышать пределов линейного измерения спектрофотометра. Рабочий диапазон спектрофотометра необходимо уточнять в паспорте прибора. Рекомендуемая максимальная оптическая плотность не более 2,5 ед. ОП.

7.2.2. Постановка на анализаторе «Alisei»

Анализатор «Alisei» имеет полностью автоматизированный процесс проведения анализа: внесение реагентов, промывка, инкубирование, измерение оптической плотности, обработка результатов. Программа определения концентрации IgG к ВПГ-1 введена в память анализатора.

7.2.2.1. При каждой постановке анализа на каждом планшете обязательно нужно определять:

- в количественном анализе - оптические плотности калибровочных проб и раствора ТМБ, а также концентрацию контрольной сыворотки;
- в качественном анализе - оптические плотности калибровочной пробы №1 (отрицательный контроль), калибровочной пробы №2 (контроль cut-off), калибровочной пробы №6 (положительный контроль) и раствора ТМБ.

7.2.2.2. В случае **дробного** применения набора необходимо извлечь калибровочные пробы и контрольную сыворотку из автоматического анализатора после их внесения в лунки всех планшетов, участвующих в постановке, и, плотно закрыв крышками, убрать в холодильник. Не допускается повторное использование калибровочных проб и контрольной сыворотки, находившихся на борту анализатора в течение всей сессии, вне зависимости от ее длительности. Остальные жидкие реагенты убрать в холодильник сразу по окончании сессии. Эти ограничения обусловлены естественным испарением жидкостей, приводящим к получению некорректных результатов измерения при последующем использовании реагентов.

7.2.2.3. Для каждой новой серии набора реагентов необходимо построение нового калибровочного графика (для количественного анализа) с концентрациями калибровочных проб, указанными на этикетках флаконов и в паспорте набора реагентов.

7.2.2.4. Не допускается рекалибрация по калибровочной кривой, полученной на наборе другой серии.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. После выполнения ручной постановки измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм. Если значение оптической плотности превышает предел линейного измерения спектрофотометра, считывание результатов проводят при 405 нм. Рабочий диапазон спектрофотометра необходимо уточнять в паспорте прибора.

При регистрации результатов **необходимо вычитать** величину оптической плотности в лунках с ТМБ из значений оптических плотностей всех остальных лунок.

Примечание: *среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с ТМБ не должно превышать 0,1 ед.ОП при 450 нм.*

8.2. **Критерии достоверности анализа** при измерении оптической плотности при длине волны 450 нм.

Результаты анализа считают достоверными при соблюдении следующих условий:

- среднее арифметическое значение ОП в лунках, содержащих отрицательную контрольную пробу (КП №1), должно быть не более 0,100 ед.ОП.;
- среднее арифметическое значение ОП в лунках, содержащих положительную контрольную пробу (КП №6), должно быть не менее 1,0 ед.ОП;
- концентрация контрольной сыворотки должна находиться в диапазоне, указанном на этикетке соответствующего флакона (для количественного анализа).

В случае, если полученные данные выходят за пределы указанных значений, результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Количественный анализ. Построить калибровочный график зависимости оптических плотностей от концентрации IgG к ВПГ-1 (Ед/мл) в калибровочных пробах (Рисунок 2). Внешний вид графика зависит от способа преобразования осей.

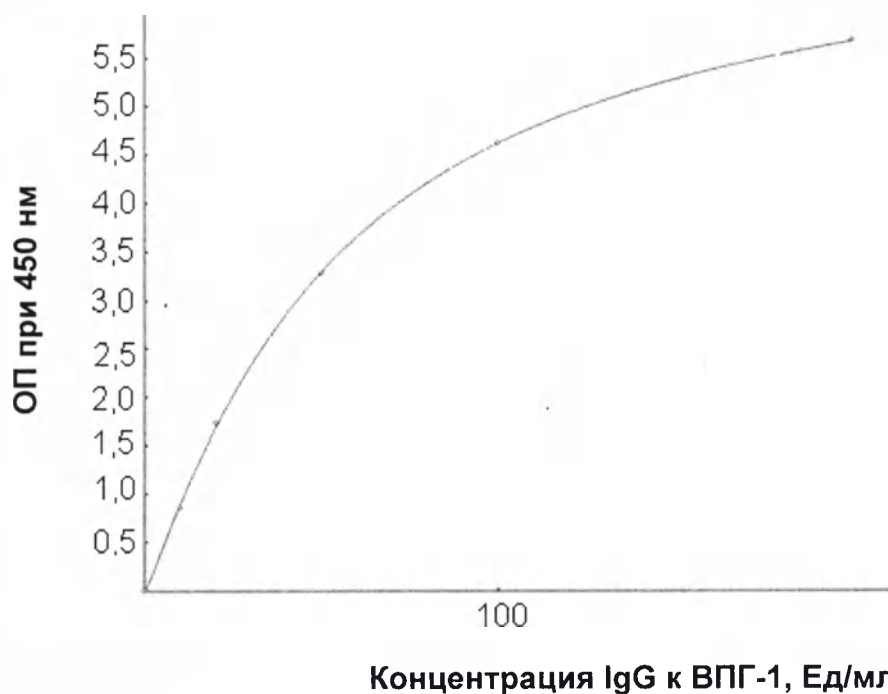


Рисунок 2. Типичный калибровочный график

Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!

Примечание 1: для построения калибровочных графиков рекомендуется использовать Программное обеспечение «ИФА Мастер», выбирая для аппроксимации зависимости кубическую сплайн-функцию.

Примечание 2: для построения калибровочного графика на масштабной бумаге необходимо использовать данные оптических плотностей после вычитания из них средней величины оптической плотности лунок с ТМБ.

Если программа фотометра не позволяет вычитать величину оптической плотности лунок A1 и A2, то необходимо пользоваться формулой:

$$B - B_T$$

где B – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы,

B_T — среднее арифметическое значение оптической плотности лунок A1 и A2.

9.1.2. Определить содержание IgG к ВПГ-1 в пробах по калибровочному графику.

9.1.3. Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации IgG к ВПГ-1, превышающих номинал КП №6, не допускается. При наличии таких случаев принимать значение концентрации исследуемого образца «выше концентрации КП №6».

9.1.4. Образцы с концентрацией иммуноглобулинов G менее 9 Ед/мл признают отрицательными по содержанию иммуноглобулинов G к ВПГ-1.

Образцы с концентрацией иммуноглобулинов G более 11 Ед/мл признают положительными по содержанию иммуноглобулинов G к ВПГ-1.

Для образцов с концентрацией иммуноглобулинов G от 9 до 11 Ед/мл полученный результат считается сомнительным и требует повторного исследования для подтверждения.

9.2. Качественный анализ

9.2.1. Сравнить оптическую плотность (ОП) образца с ОПкрит. ОПкрит. равна оптической плотности КП №2 (контроль cut-off).

9.2.2. Образцы с ОП ниже ОПкрит. признают отрицательными (не содержащими иммуноглобулины G к ВПГ-1);

Образцы с ОП выше ОПкрит. признают положительными (содержащими иммуноглобулины G к ВПГ-1).

Область значений ОП $\pm 10\%$ от ОПкрит. является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, результат считается сомнительным и требует повторного исследования для подтверждения.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор «ГерпесИФА-IgG» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...8°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора — 18 месяцев.

10.2. Набор следует вынимать из холодильника не более чем за 1 час, но не позже, чем за 30 минут до проведения анализа.

10.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- стрипы поместить сначала в пакет с этикеткой, затем в пакет закрывающийся полиэтиленовый и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2...8°C в течение всего срока годности;

- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°C в течение всего срока годности;

- раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°C не более 6-ти месяцев;

- концентрированные водно-солевой раствор для промывки лунок и раствор Триала, буфер А, буфер В, конъюгат Е и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°C в течение всего срока годности.

- водно-солевой раствор для промывки лунок и рабочий раствор Триала, подготовленные к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре (+18...25°C) не более 5 суток.

10.4. При использовании набора для проведения нескольких независимых анализов необходимо иметь в виду следующее:

- для каждого независимого количественного анализа необходимо построение калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации IgG к ВПГ-1 в контрольной сыворотке;

- для каждого независимого качественного анализа необходимо определение ОП КП №1, КП №2, КП №6;

- запрещается возвращать избыток конъюгата Е, буфера А, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;

• из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения.

10.5. Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных партий, за исключением ТМБ, стоп-реагента и концентрированного промывочного раствора, входящих в состав данного набора реагентов.

10.6. Запрещается использовать промывочный раствор, стоп-реагент и ТМБ из наборов реагентов других фирм-производителей.

10.7. Запрещается использовать промывочные растворы производства Алкор Био с буквенными обозначениями, отличными от указанного в инструкции к набору.

10.8. К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

10.9. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

11.1. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта при температуре +2 ...8 °С. Допускается транспортирование набора при температуре до +25 °С не более 15 суток, в том числе при температуре +37 °С не более 1 суток.

11.2. Набор, транспортированный с нарушением температурного режима, применению не подлежит.

12. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

12.1. При утилизации наборы с истекшим сроком годности должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами в соответствии с требованиями МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

12.2. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые утилизируются в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

13. ТРЕБОВАНИЯ К ПЕРСОНАЛУ, УЧАСТВУЮЩЕМУ В ВЫПОЛНЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим или иным образованием, окончившие соответствующие курсы специальной подготовки с освоением методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I-II групп патогенности. Персонал, проводящий исследования с использованием данного набора реагентов, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований и работы на соответствующем оборудовании.

14. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам качества набора «ГерпесИФА-IgG» обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный проспект, д. 40, лит. А, тел/факс: (812) 677-8779.



15. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

	Только для <i>in vitro</i> диагностики		Количество тестов
	Номер по каталогу		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Номер серии		Срок годности
	Производитель		Хранить при
	Дата изготовления		Биологическая опасность
	Обратитесь к инструкции по применению		Беречь от влаги

Примечания к Схеме проведения анализа :

- КП — калибровочная проба;
- КС — контрольная сыворотка;
- ОП — оптическая плотность;
- КТ — комнатная температура (+18...25 °С);
- ПО — программное обеспечение.

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



Варнавичус П.К.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА (КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ, РУЧНАЯ ПОСТАНОВКА)

Стадия (операция)	Реагенты	Температура	Время	Примечания
Предварительное разведение исследуемых образцов	1000 мкл буфера В + 10 мкл образца	КТ (+18...+25°C)		Все образцы тщательно перемешать
Внесение реагентов	100 мкл буфера А		Внесение КП, КС и исследуемых образцов не более 15'	В лунки для определения ОП ТМБ ничего не вносить
	50 мкл КП и КС			
	50 мкл исследуемых образцов			
Инкубация №1	—	+37°C	45'	Термостатируемый шейкер , 500 – 800 об/мин
			45'	Перед инкубацией перемешать. Термостат , без шейкирования
Промывка	300 мкл в лунку 1* промывоч-ного раствора (4 раза)			1* промывочный раствор = 50 мл буфера S + 950 мл H ₂ O
Внесение конъюгата	100 мкл конъюгата			Конъюгат не вносить в лунки для определения ОП ТМБ
Инкубация №2	—	+37°C	30'	Термостатируемый шейкер , 500 – 800 об/мин
			90'	Перед инкубацией перемешать. Термостат , без шейкирования
Промывка	300 мкл в лунку 1* промывоч-ного раствора (4 раза)			1* промывочный раствор = 50 мл буфера S + 950 мл H ₂ O
Внесение хромогена	100 мкл ТМБ			
Инкубация с ТМБ	—	+37°C	10'	В темноте, термостатируемый шейкер , 500 – 800 об/мин
		КТ	15'-30'	В темноте, без шейкирования
Остановка ферментной реакции	100 мкл <i>stop-реагента</i>			
Перемешивание		КТ	1 – 2'	Шейкер
			20-30"	Постукивание рамки
Регистрация результатов	—		В течение 20' после остановки ферментной реакции	Фотометр , 450 нм, 405 нм
Обработка результатов				Калькулятор и масштабная бумага/ соответствующее ПО

Инструкция по применению Набора реагентов с принадлежностями для качественного и количественного иммуноферментного определения иммуноглобулинов G к *Neisseria simplex* 1 типа в сыворотке и плазме крови человека «ГептесИФА-1IgG»

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА (КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕБ, РУЧНАЯ ПОСТАНОВКА)

№	Стадия (операция)	Реагенты	Темпера- тура	Время	Примечания	№
1	Предварительное разведе- ние исследуемых образцов	1000 мкл буфера В + 10 мкл образца	КТ (+18... +25°C)		Все образцы тщательно перемешать	1
2	Внесение реагентов	100 мкл буфера А		Внесение КП, КС и исследуемых образцов не более 15'	В лунки для определения ОП ТМБ ничего не вносить	2
3		50 мкл КП №1; КП №2; КП №6				3
4		50 мкл исследуемых образцов				4
5	Инкубация №1	—	+37°C	45'	Термостатируемый шейкер , 500 – 800 об/мин	5
				45'	Перед инкубацией перемешать. Термостат , без шейкирования	6
6	Промывка	300 мкл в лунку <u>1*</u>промывоч-ного раствора (4 раза)			1* промывочный раствор = = 50 мл буфера S + 950 мл H ₂ O	7
7	Внесение конъюгата	100 мкл конъюгата			Конъюгат не вносить в лунки для определения ОП ТМБ	8
8	Инкубация №2	—	+37°C	30'	Термостатируемый шейкер , 500 – 800 об/мин	9
				90'	Перед инкубацией перемешать. Термостат , без шейкирования	10
9	Промывка	300 мкл в лунку <u>1*</u>промывоч-ного раствора (4 раза)			1* промывочный раствор = = 150 мл буфера S + 950 мл H ₂ O	11
10	Внесение хромогена	100 мкл ТМБ				12
11	Инкубация с ТМБ	—	+37°C	10'	Термостатируемый шейкер , 500 – 800 об/мин, в темноте	13
			КТ	15'-30'	В темноте, без шейкирования	14
12	Остановка ферментной ре- акции	100 мкл стоп-реагента				15
13	Перемешивание		КТ	1 – 2'	Шейкер	16
				20-30"	Постукивание рамки	17
14	Регистрация результатов			В течение 20' после остановки ферментной реакции	Фотометр , 450 нм, 405 нм	18
15	Обработка				Калькулятор и масштабная бумага/ соответствующее ПО	19

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 17 (свидающего) лист

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
Д.Г. Полинцев



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 17 ЛИСТОВ

« » 2012 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавинус Н.К.

