

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ИМБИАН ЛАБ»

/В.В. Осипова/

20 23 г.



**Инструкция по применению медицинского изделия
для диагностики in vitro**

**Набор реагентов для качественного иммуноферментного
определения Core антигена вируса гепатита С в сыворотке и
плазме крови «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА»
по ТУ 21.20.23-476-41390295-2023**

ВВЕДЕНА ВПЕРВЫЕ

REF

VE-012



Для 96, 192 и 480 определений



ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7
+7 (383) 209-34-54
info@imbian.ru
www.imbian.ru

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая инструкция по применению распространяется на Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения Core антигена вируса гепатита С в сыворотке и плазме крови «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-476-41390295-2023 (далее Набор реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА»).

Сокращенное наименование

ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА

Назначение изделия

Набор реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» предназначен для качественного определения Core антигена ВГС в сыворотке и плазме (с ЭДТА, гепарином, цитратом натрия) крови человека методом иммуноферментного двухстадийного «сэндвич» анализа.

Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении как вспомогательное средство диагностики инфекции, вызванной ВГС.

Популяционно-демографические особенности

Выявление Core антигена ВГС целесообразно проводить у следующих групп населения:

- беременные женщины;
- доноры крови и органов для трансплантации;
- некоторые профессиональные контингенты (работники питания, образования, здравоохранения);
- военнослужащие;
- лица, отбывающие наказание в местах лишения свободы;
- иностранные граждане — получение виз для проживания на территории России сроком более 3 месяцев.

Функциональное назначение

Вспомогательное средство в диагностике.

Показания

При симптомах вирусного гепатита и повышении уровня печеночных трансаминаз. При обследовании людей из группы риска по заражению вирусным гепатитом С. При подготовке к оперативному хирургическому вмешательству и поступлению на стационарное лечение. При подтверждении наличия Core антигена для результатов, полученных на наборе реагентов «ВГС-АГ/АТ-ИМБИАН-ИФА».

Противопоказания

Отсутствуют.

Побочные эффекты

Отсутствуют.

Потенциальные потребители изделия

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и прошедшим соответствующую профессиональную подготовку в области используемых методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Профессиональный уровень потенциальных потребителей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник, лаборант.

Область применения

Клиническая лабораторная диагностика *in vitro*.

Перечень и описание материалов медицинского изделия, вступающих в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента (телом человека)

Отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента.

Перечень материалов животного и (или) человеческого происхождения, лекарственных средств и фармацевтических субстанций

Иммуносорбент содержит мышинные моноклональные антитела к Core антигену ВГС.

РК1 содержит мышинные моноклональные антитела к Core антигену ВГС с биотином.

Изделие не содержит материалы человеческого происхождения, лекарственных средств и фармацевтических субстанций.

Методы стерилизации и дезинфекции изделия

Изделие нестерильно, не требует стерилизации и дезинфекции.

Кратность применения медицинского изделия

Изделие предназначено для однократного применения по назначению.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

1. ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ

1.1. Комплектность

Набор реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» рассчитан на 96 определений (комплект №1), 192 определения (комплект №2) и 480 определений (комплекты №3 и №4), включая контрольные образцы, с использованием анализатора автоматического иммуноферментного открытого типа или с помощью ручной постановки анализа.

Комплектность набора реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» представлена в таблице 1.

Таблица 1. Состав набора реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА»

Название компонента	Описание компонента	Комплект №1	Комплект №2	Комплект №3	Комплект №4
Иммуно-сорбент	96-луночный планшет из бесцветного полистирола, стрипированный, в лунках которого сорбированы мышинные моноклональные антитела к Core антигену ВГС. Готов к применению.	1 шт.	2 шт.	5 шт.	5 шт.
К(+)	Положительный контрольный образец, содержащий рекомбинантный антиген Core ВГС. Прозрачная слегка опалесцирующая жидкость зелёного цвета. Содержит фенол (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (1,0 мл)	1 флакон (2,0 мл)	1 флакон (5,0 мл)	1 флакон (5,0 мл)
К(-)	Отрицательный контрольный образец, не содержащий антиген Core ВГС. Прозрачная слегка опалесцирующая жидкость синего цвета.	1 флакон (2,0 мл)	1 флакон (4,0 мл)	1 флакон (10,0 мл)	1 флакон (10,0 мл)

	Готов к применению.				
ФСБ-Т	Концентрат промывочного раствора. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Содержит бензоат натрия (0,2%). Требуется разведения.	1 флакон (50,0 мл)	1 флакон (100,0 мл)	1 флакон (250,0 мл)	1 флакон (250,0 мл)
РК1	Раствор конъюгата №1. Мышинные моноклональные антитела к Core антигену ВГС с биотином. Слегка опалесцирующая жидкость жёлтого цвета. Содержит фенол (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (7,0 мл)	1 флакон (13,0 мл)	1 флакон (31,0 мл)	1 флакон (40,0 мл)
КГ2(х11)	Концентрат конъюгата №2, 11-кратный. Стрептавидин с пероксидазой хрена. Слегка опалесцирующая бесцветная или жёлтого цвета жидкость. Содержит фенол (0,1%). Требуется разведения.	1 флакон (1,3 мл)	1 флакон (2,5 мл)	1 флакон (6,1 мл)	1 флакон (8,0 мл)
РРК2	Раствор для разведения концентрата конъюгата №2. Слегка опалесцирующая жидкость зелёного цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)	1 флакон (25,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)	1 флакон (80,0 мл)
ТМБ	Раствор тетраметилбензидина. Прозрачная бесцветная жидкость. Содержит бензоат натрия (0,2%). Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)	1 флакон (25,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)	1 флакон (80,0 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Содержит кислоту серную (1,0 моль/литр). Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)	1 флакон (25,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)	1 флакон (250,0 мл)
Пленка для заклеивания планшета		3 шт.	6 шт.	15 шт.	-
Ванночка		3 шт.	6 шт.	15 шт.	-
Наконечник		24 шт.	48 шт.	120 шт.	-
Инструкция по применению набора реагентов		1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.

В комплект каждой поставки должен входить паспорт качества в одном экземпляре независимо от количества наборов реагентов в поставке.

Возможны отдельные независимые постановки анализа с необходимым количеством стрипов Иммуносорбента.

Растворы реагентов **ФСБ-Т** и **Стоп-реагент** являются унифицированными неспецифическими компонентами набора реагентов и могут применяться для исследования в любых сериях наборов реагентов.

1.2. Принцип метода

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе в «сэндвич» варианте с использованием биотин-стрептавидинового усиления специфического сигнала.

На внутренней поверхности лунок иммуносорбента сорбированы мышинные моноклональные антитела к Core антигену ВГС. На первом этапе проведения анализа в лунки

иммуносорбента вносятся исследуемые образцы (сыворотка или плазма крови человека) и раствор конъюгата №1 (биотинилированный конъюгат на основе мышиных моноклональных антител к Core антигену ВГС).

При наличии в исследуемом образце Core антигена ВГС, он связывается с моноклональными антителами к Core антигену ВГС на поверхности лунок планшета и с моноклональными антителами к Core антигену ВГС, конъюгированными с биотином в составе **РК1**. Происходит образование иммунных комплексов «антитело/антиген/антитело-биотин».

На второй стадии анализа, после удаления несвязавшихся компонентов исследуемого образца и **РК1**, образовавшийся иммунный комплекс выявляется конъюгатом №2 (стрептавидин с пероксидазой хрена).

После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляют раствор тетраметилбензидина. Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя **Стоп-реагент**, и измеряют оптическую плотность смеси в лунках планшета при двухволновом режиме (450 нм относительно 620-700 нм). Интенсивность окрашивания в лунках определяется присутствием Core антигена ВГС.

2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

2.1. Предел обнаружения

Предел обнаружения набора реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» по Core антигену ВГС при исследовании на наборе образцов сывороток крови, не содержащих и содержащих Core антиген ВГС в различных концентрациях «Core антиген ВГС контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ, Россия) составляет 10 пг/мл.

2.2. Повторяемость

В рамках внутренних испытаний:

1) внутрисерийный коэффициент вариации результатов постановки на наборе реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 3 положительных образцов, содержащих Core антиген ВГС, в 30 повторах на трёх сериях каждого комплекта не превышает 8,0 %;

2) межсерийный коэффициент вариации результатов постановки на наборе реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 3 положительных образцов, содержащих Core антиген ВГС, в 30 повторах на трёх сериях каждого комплекта не превышает 8,0 %.

В рамках технических испытаний повторяемость результатов постановки на наборе реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» исследовали на 8 повторах К(+). Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов не превысили 8%.

В рамках клинических испытаний:

Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов постановки на наборе реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 10 положительных образцов сыворотки и 10 положительных образцов плазмы, содержащих антиген ВГС, в 10 повторах каждого образца не превысили 8,0 %.

2.3. Правильность

Значение оптической плотности в лунках с К(+) для каждого из восьми повторов должно быть не менее 1,000 о.е., т.е. правильность составляет 100 %.

2.4. Хук-эффект

При исследовании на наборе образцов сывороток крови, не содержащих и содержащих Core антиген ВГС в различных концентрациях «Core антиген ВГС контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ, Россия) в концентрации 200 пг/мл ложноотрицательных результатов (хук-эффекта) выявлено не было.

2.5. Перекрестная реактивность

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали

на 220 заведомо отрицательных сыворотках крови человека, не содержащих Core антиген ВГС, содержащих ревматоидный фактор, от беременных женщин и пациентов, больных невирусными гепатитом, или инфицированных *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, вирусом простого герпеса 1 и 2 типов, вирусом гепатита А, В, D и G, а также содержащих p24 антиген ВИЧ-1.

Результаты ИФА показали, что ложноположительные результаты при применении набора реагентов отсутствуют.

2.6. Интерферирующие вещества

В рамках клинических испытаний проводили оценку влияния эндогенных (гемоглобин, билирубин, холестерин, общий белок, глюкоза, триглицериды, этанол, молочная кислота, мочеви́на) и экзогенных (паритапревир, омбитасвир, ритонавир, дасабувир, нарлапревир, гразопревир, элбасвир, софосбусвир, велпатасвир, ацикловир, кагоцел, осельтамивир, умифеновир, тилорон) интерферирующих веществ на результат анализа на наборе «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» на 290 образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих Core антиген ВГС.

Доказано, на результат анализа не оказывают влияние:

Эндогенные интерферирующие вещества	Экзогенные интерферирующие вещества
- гемоглобин (до 300,0 г/л); - билирубин (до 300,0 мг/л); - холестерин (до 4,0 г/л); - общий белок (до 150,0 г/л); - глюкоза (до 2,0 г/л); - триглицериды (до 10,0 г/л); - этанол (2,0 г/л); - молочная кислота (до 400,0 мг/л); - мочеви́на (до 800,0 мг/л).	- паритапревир (до 15,0 мг/мл); - омбитасвир (до 2,5 мг/мл); - ритонавир (до 10,0 мг/мл); - дасабувир (до 50,0 мг/мл); - нарлапревир (до 20,0 мг/мл); - гразопревир (до 50 мг/мл); - элбасвир (до 25 мг/мл); - софосбусвир (до 80,0 мг/мл); - велпатасвир (до 20,0 мг/мл); - ацикловир (до 40 мг/мл); - кагоцел (до 3 мг/мл); - осельтамивир (до 15 мг/мл); - умифеновир (до 50 мг/мл); - тилорон (до 25 мг/мл).

2.7. Эквивалентность

В рамках клинических испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке сыворотки и плазмы крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента, содержащих и не содержащих Core антиген ВГС, методом ИФА при постановке по процедуре №1 (термошейкер) и процедуре №2 (термостат) проводили на 160 отрицательных образцах, не содержащих Core антиген ВГС, взятых от 40 пациентов, 200 положительных образцах, содержащих Core антиген ВГС, взятых от 50 пациентов.

Результаты испытаний продемонстрировали эквивалентность сыворотки плазме крови человека (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия).

2.8. Воспроизводимость

Для определения воспроизводимости анализа была проведена оценка результатов повторяемости анализа, полученных при: проведении предварительных испытаний, проведении технических испытаний в ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» и проведении клинических испытаний в ФИЦ ФТМ.

Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов при определении Core антигена ВГС в исследуемых образцах не превышает 8,0 %.

2.9. Стабильность

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для установления срока годности и условий хранения набора реагентов.

По результатам испытаний набор реагентов: сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8 °С в течение срока годности (26 мес.) и еще 1 мес. после окончания срока годности; сохраняет стабильность после транспортировки при температуре от 9 до 30 °С в течении 15 суток и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности (26 мес.) и еще 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и дальнейшего хранения их при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности (26 мес.) и еще 1 месяца после окончания срока годности или при температуре от 15 до 30 °С в течение 10 суток и еще 1 суток.

Воздействие температуры не выше 30 °С в течение 15 суток не влияет на характеристики набора реагентов. Допускается транспортирование при температуре не выше 30 °С в течение 15 суток.

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранится в течение 15 суток и ещё одних суток при температуре от 18 до 28 °С или 45 суток и ещё одних суток при температуре от 2 до 8 °С. Рабочий раствор конъюгата 2 хранится в течение 24 часов при температуре от 18 до 28 °С.

2.10. Диагностическая чувствительность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность выявления Core антигена ВГС при исследовании сыворотки и плазмы крови (с ЭДТА, цитратом натрия и гепарином) определяли на 562 положительных образцах (в т.ч. 172 образца последовательной сдачи крови, полученные от 20 пациентов и 25 образцов свежих проб (взяты в тот же день или днем ранее), показана 100 % чувствительность (ДВ 95 %, ДИ: 99,35 % - 100 %).

Из них:

- 402 положительных образца сыворотки крови, содержащих Core антиген ВГС;
- 120 положительных образцов плазмы крови (с ЭДТА, гепарином, цитратом натрия), содержащих Core антиген ВГС.

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Исследуемый материал	Диагностическая чувствительность (ДВ 95 %)
Сыворотка крови человека, содержащая Core антиген ВГС	99,09 – 100 %
Плазма крови человека (с ЭДТА, цитратом натрия и гепарином), содержащая Core антиген ВГС	97,72 – 100 %

2.11. Диагностическая специфичность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность выявления Core антигена ВГС при исследовании сыворотки и плазмы крови (с ЭДТА, цитратом натрия и гепарином) определяли на 715 отрицательных образцах (в т.ч. 100 образцов доноров крови и органов), показана 100 % специфичность (ДВ 95 %, ДИ: 99,49 - 100 %).

Из них:

- 595 отрицательных образцов сыворотки крови, не содержащих Core антиген ВГС;
- 120 отрицательных образцов плазмы крови (с ЭДТА, цитратом натрия и гепарином), не содержащих Core антиген ВГС.

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Исследуемый материал	Диагностическая чувствительность (ДВ 95 %)
Сыворотка крови человека, не содержащая Core антиген ВГС	99,38 – 100 %

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора реагентов в соответствии с Приказом Минздрава Российской Федерации от 6 июня 2012 года № 4н «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий» – класс 3.

При работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, маску, перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток.

Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.

В состав компонентов **K(+)**, **РК1**, **КГ2(x11)**, **РРК2**, **ТМБ**, **ФСБ-Т** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **РРК2** содержит 0,1% Проклина 300, **K(+)**, **РК1** и **КГ2(x11)** содержат 0,1% фенола; **ТМБ** и **ФСБ-Т** – 0,2% бензоата натрия.

Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием, за счет кислоты серной, входящей в состав. При работе избегать попадания **Стоп-реагента** на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики *in vitro*.

Лабораторную посуду многоразового использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество анализа.

Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70 % раствором этилового спирта.

Выполнять процедуру анализа следует в строгом соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов.

Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

Не использовать реагенты других производителей.

Не использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа (кроме унифицированных компонентов набора: **ФСБ-Т** и **Стоп-реагента**).

Не подвергать реагенты воздействию высоких температур и прямых солнечных лучей в процессе использования и хранения.

Не замораживать набор реагентов, как целиком, так и отдельные его компоненты.

Исследования проводить в соответствии с условиями внешней среды для постановки анализа, представленными в таблице 2.

Таблица 2. Условия внешней среды для постановки анализа

№ п/п	Показатели	Значения
1	Температура воздуха	15-30 °C
2	Относительная влажность	20-80 %

Не проводить исследования в присутствии паров щелочей, кислот, альдегидов, в запыленном помещении.

Использовать для дезинфекции реагенты, не оказывающие воздействия на ферментативную реакцию: дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

Не использовать дезинфицирующие средства, содержащие активный кислород и хлор, в помещении, где проводится исследование.

Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

Использовать новые одноразовые наконечники отдельно для каждого анализируемого образца и компонента набора реагентов при работе с образцами и реагентами набора.

Исключить контакт металлических предметов с РК1, КГ2(х11) и ТМБ.

Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

Не использовать одну и ту же ёмкость, в том числе и многоразовую, после промывки, для РК1, КГ2(х11) и ТМБ.

Рекомендуется использовать разные дозаторы для отбора РК1, КГ2(х11) и ТМБ. При использовании одного дозатора необходимо тщательно следить за чистотой посадочного конуса дозатора. Перед сменой реагента тщательно обрабатывать внутреннюю и внешнюю поверхности посадочного конуса 70% этиловым спиртом.

Рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство для отмывки Иммуносорбента. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости дистиллированной водой. Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и ёмкости промывочного устройства 70 % этиловым спиртом.

Для исключения контаминации образцов друг другом и К(+) требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

Следует помнить, что результаты тестирования на наличие Core антигена ВГС не могут быть единственным критерием для диагностики или исключения ВГС инфекции, или для определения статуса инфекции.

Отрицательный результат исследования при наличии инфицирования ВГС возможен у пациентов со слабым иммунным ответом (состояние иммуносупрессии).

4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки анализа необходимы следующие оборудования и материалы:

- термогигрометр, позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне 0-30 °C ± 0,2 °C, относительную влажность – 20-90 %;
- дозаторы лабораторные переменного объема одно- и многоканальные вместимостью от 10 до 1000 мкл;
- наконечники одноразовые к дозаторам лабораторным вместимостью от 10 до 1000 мкл;
- ванночки для разведения компонентов;
- микроцентрифуга лабораторная на 1000-3000 об./мин;
- термостатирующее устройство для планшетов (или термостат) с режимом термостатирования 37±1 °C;
- орбитальный термошейкер, поддерживающий температуру 37±1 °C и с частотой вращения платформы 700 об./мин.;
- устройство для промывания планшета (вошер);
- спектрофотометр (фотометр) вертикального сканирования позволяющий выполнять измерения оптической плотности содержимого лунок планшета при 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр) или анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;
- холодильная или морозильная камера;

- цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;
- ёмкость с крышкой для жидкого дезинфицирующего средства;
- вода дистиллированная (ГОСТ Р 58144-2018 «Вода дистиллированная. Технические условия») или вода очищенная (ФС.2.2.0020.18 от 31.10.2018 «Вода очищенная»);
- бумага фильтровальная;
- таймер;
- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;
- лабораторная посуда.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца – 50 мкл.

Образцы сыворотки (плазмы) крови до анализа ИФА хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8 °С. Длительное хранение (до 6 месяцев) анализируемых образцов осуществлять при температуре минус (20±5) °С.

Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17-27) °С тщательно перемешать для устранения возникающего при заморозке градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждая последующая заморозка-разморозка снижает качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования, рекомендуется использовать только однократное замораживание-размораживание образцов, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

Не рекомендуется использование для исследования образцов с видимым микробным загрязнением («проростом»).

Образцы, содержащие осадок, взвешенные частицы, перед анализом подвергнуть центрифугированию в течение 10 мин при частоте вращения 3000 об./мин.

Внимание!

Перед подготовкой реагентов к работе и проведением исследования настоятельно рекомендуется еще раз прочитать раздел «Меры предосторожности» настоящей инструкции по применению.

6. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный **Иммуносорбент**.

Выдержать компоненты в течение 30 мин при температуре от 15 до 30 °С, аккуратно перемешать.

K(+), K(-), PK1, ТМБ и Стоп-реагент готовы к применению и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные **K(+), K(-), PK1, ТМБ и Стоп-реагент** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Компоненты **ФСБ-Т** и **КГ2(x11)** представлены в виде концентратов. Требуют разведения.

Подготовка Иммуносорбента

Вскрыть пакет с **Иммуносорбентом**. Установить в рамку **Иммуносорбента** необходимое количество стрипов. Неиспользуемые в данной постановке стрипы сразу после вскрытия пакета

с планшетом поместить в фольгированный пакет с застежкой типа zip-lock. Из пакета удалить остаточный воздух, закрыть застежку, убрать в холодильную камеру.

Хранить неиспользованные стрипы при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора реагентов.

Рамку планшета сразу после использования промыть 70 % этиловым спиртом и затем дистиллированной водой. Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора **ФСБ-Т** возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с **ФСБ-Т** выдержать при температуре 37 ± 1 °С до полного растворения солей.

Предусмотрены 3 варианта разведения **ФСБ-Т**: 20-кратное, 25-кратное и 26-кратное.

Необходимое количество рабочего промывочного раствора **ФСБ-Т** приготовить в соответствии с таблицей 3.

Рабочий промывочный раствор **ФСБ-Т** хранить при температуре от 18 до 28 °С не более 15 суток или при температуре от 2 до 8 °С не более 45 суток.

Неиспользованный **ФСБ-Т** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Приготовление рабочего раствора конъюгата 2

Необходимое количество рабочего раствора конъюгата 2 приготовить в соответствии с таблицей 3. Смешивание соответствующих объемов **РРК2** и **КГ2(х11)** допустимо выполнять, используя ванночку для реагентов. Компоненты смешиваются аккуратным 12-15-кратным пипетированием.

Рабочий раствор конъюгата 2 хранить при температуре от 18 до 28 °С не более 8 часов в защищенном от света месте.

Неиспользованный **КГ2(х11)** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Таблица 3. Приготовление рабочих растворов

Количество используемых стрипов, шт.	20-кратное разведение ФСБ-Т		25-кратное разведение ФСБ-Т		26-кратное разведение ФСБ-Т		Рабочий раствор конъюгата 2	
	ФСБ-Т, мл	Вода*, мл	ФСБ-Т, мл	Вода*, мл	ФСБ-Т, мл	Вода*, мл	КГ2(х11), мл	РРК2, мл
1	4,0	76,0	4,0	96,0	4,0	100,0	0,1	1,0
2	8,0	152,0	8,0	192,0	8,0	200,0	0,2	2,0
3	12,0	228,0	12,0	288,0	12,0	300,0	0,3	3,0
4	16,0	304,0	16,0	384,0	16,0	400,0	0,4	4,0
5	20,0	380,0	20,0	480,0	20,0	500,0	0,5	5,0
6	24,0	456,0	24,0	576,0	24,0	600,0	0,6	6,0
7	28,0	532,0	28,0	672,0	28,0	700,0	0,7	7,0
8	32,0	608,0	32,0	768,0	32,0	800,0	0,8	8,0
9	36,0	684,0	36,0	864,0	36,0	900,0	0,9	9,0
10	40,0	760,0	40,0	960,0	40,0	1000,0	1,0	10,0

11	44,0	836,0	44,0	1056,0	44,0	1100,0	1,1	11,0
12	50,0	950,0	50,0	1200,0	50,0	1250,0	1,3	13,0

Примечание. Вода дистиллированная по ГОСТ 58144-2018 «Вода дистиллированная. Технические условия» или вода очищенная по ФС.2.2.0020.18 от 31.10.2018 «Вода очищенная».

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Предусмотрены два варианта ручной постановки анализа: процедура №1 (использование термошейкера) и процедура №2 (использование термостата). Вариант постановки анализа по процедуре №1 представлен в таблице 4, вариант постановки по процедуре №2 представлен в таблице 5.

Таблица 4. Постановка анализа по процедуре №1 (с использованием термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 50 мкл К(+) . Внести в две лунки по 50 мкл К(-) . Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1 - К(+) , лунки B1 и C1 – К(-) .	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 50 мкл образцов , а затем во все лунки Иммуносорбента внести по 50 мкл РК1 . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин . При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 60 мин . Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об./мин ; температура инкубации: 37±1 °С .	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Три раза промыть планшет рабочим промывочным раствором ФСБ-Т, внося в лунки по 400 мкл раствора , используя режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд . При отсутствии возможности использования режима перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз . По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата 2. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения рабочего раствора конъюгата 2 при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин . Внимание! Остатки рабочего раствора конъюгата 2 из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 20 мин . Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об./мин ; температура инкубации: 37±1 °С .	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к

	Три раза промыть планшет рабочим промывочным раствором ФСБ-Т, внося в лунки по 400 мкл раствора, используя режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. При отсутствии возможности использования режима перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	искажению результата исследования. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ .	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин. <u>Внимание!</u> Остатки ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об./мин; температура инкубации: 37±1 °С.	<u>Внимание!</u> Инкубацию проводить в защищенном от света месте.
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин .
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра (фотометра) при длине волны 450 нм или используя два фильтра: - основной - 450 нм; - референсный – 620-680 нм.	<u>Внимание!</u> Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин после остановки реакции.

Таблица 5. Постановка анализа по процедуре №2 (с использованием термостата)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 50 мкл К(+). Внести в две лунки по 50 мкл К(-). Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1 - К(+), лунки B1 и C1 – К(-).	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 50 мкл образцов, а затем во все лунки Иммуносорбента внести по 50 мкл РК1. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 90 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°С.	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Три раза промыть планшет рабочим	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования.

	промывочным раствором ФСБ-Т, внося в лунки по 400 мкл раствора, используя режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. При отсутствии возможности использования режима перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата 2. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения рабочего раствора конъюгата 2 при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин. Внимание! Остатки рабочего раствора конъюгата 2 из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37 ± 1 °C.	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Три раза промыть планшет рабочим промывочным раствором ФСБ-Т, внося в лунки по 400 мкл раствора, используя режим перекрестной промывки откачивания жидкости из двух точек дна лунки. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. При отсутствии возможности использования режима перекрестной промывки необходимо увеличить количество промывок до пяти раз. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ.	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин. Внимание! Остатки ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37 ± 1 °C (допускается инкубация при температуре от 15 до 30 °C без использования термостата).	Внимание! Инкубацию проводить в защищенном от света месте.
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента.	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин.
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра (фотометра) при длине волны 450 нм или используя два фильтра: - основной - 450 нм; - референсный – 620-680 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин после остановки реакции.

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить также как и при ручной постановке анализа.

Рекомендуется настроить спектрофотометрическую (фотометрическую) верификацию этапов анализа. Для этого необходимо обратиться к представителю производителя набора реагентов.

Технические характеристики

Значение ОП в лунке с К(+) должно быть не менее 1,000 о.е.

Среднее значение в лунках с К(-) (ОП К(-)_{ср}) должно быть не более 0,200 о.е.

При использовании 1 стрипа значение ОП К(-)_{ср} не определяют, значение ОП в лунке с К(-) должно быть не более 0,200 о.е.

Если полученные значения ОП в лунках с контрольными образцами не соответствуют техническим характеристикам набора, результаты не учитывают. Исследование проводят повторно.

Результаты регистрируют при помощи спектрофотометра (фотометра) вертикального сканирования. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм или используя два фильтра - 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр).

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Расчеты

Для определения соответствия полученных результатов измерений критериям правильности теста рассчитывают среднее значение ОП в лунках с К(-) по формуле:

$$\text{ОП К(-)}_{\text{ср}} = \frac{(\text{ОП К(-)}_1 + \text{ОП К(-)}_2)}{2}$$

Рассчитать ОП критического уровня ОП крит.(cut off):

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП К(-)}_{\text{ср}} + 0,200$$

При использовании одного стрипа:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП К(-)} + 0,200$$

Примечание. 0,200 – коэффициент, определенный методом статистической обработки результатов исследований на предприятии-изготовителе.

Или рассчитать коэффициент позитивности (КП):

$$\text{КП} = \frac{\text{ОП}_{\text{обр}}}{\text{ОП}_{\text{крит}}}$$

Интерпретация результатов

Если ОП анализируемого образца меньше (<) ОП_{крит} (или КП<1), результат исследования образца считают отрицательным: Core антиген ВГС не обнаружен.

Если ОП анализируемого образца больше или равно (≥) ОП_{крит} (или КП≥1), результат исследования образца считают положительным: Core антиген ВГС обнаружен.

9. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В процессе использования и утилизации наборов реагентов токсичных отходов не образуется. Образуются отходы классов А, Б, В и Г, которые необходимо обеззараживать и утилизировать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации

и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий» через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

Все промывные растворы, собранные в специальный контейнер и обработанные дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке, следует утилизировать как отходы класса В.

Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий», следует утилизировать как отходы класса В.

Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукomплектовать. Шоу-бокс, вкладыш из полиэтиленфтолата, флаконы, крышки для флаконов, пакет фольгированный и инструкцию по применению утилизировать как отходы класса А.

Неиспользованные **РРК2** и **ФСБ-Т** следует утилизировать, как отходы класса А.

Неиспользованные **Иммуносорбент, К(+), К(-), РК1** и **КГ2(x11)** следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

Неиспользованные **ТМБ** и **Стоп-реагент** следует утилизировать, как отходы класса Г.

10. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Таблица 6. Срок годности, условия транспортирования и хранения набора реагентов и компонентов

Параметр	Период	Условия
Срок годности набора реагентов	26 месяцев	хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С Внимание! Замораживание не допускается
Транспортировка	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8 °С
	не более 15 суток	при температуре от 9 до 30 °С
Вскрытые компоненты: Иммуносорбент, К(+), К(-), ФСБ-Т, РК1, КГ2(x11), РРК2, ТМБ, Стоп-реагент	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С
	не более 10 суток	при температуре от 15 до 30 °С
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	не более 15 суток	при температуре от 18 до 28 °С
	не более 45 суток	при температуре от 2 до 8 °С
Рабочий раствор конъюгата 2	не более суток	от 18 до 28 °С в защищенном от света месте

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» требованиям нормативной и технической документации, а также качество и безопасность продукта в течение всего срока годности.

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА» направлять по адресу предприятия-изготовителя: Общество с ограниченной ответственностью «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Россия, Новосибирская область, г.о. рабочий

12. ФОРМА ПОДАЧИ РЕКЛАМАЦИЙ

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставить:

- рекламационный набор реагентов (при наличии) с сопроводительным письмом, содержащим информацию о выявленных несоответствиях;
- исследуемые образцы;
- протоколы исследований, выполненных другим методом (указать наименование, серию, срок годности набора);
- протоколы исследований, выполненных референсным набором, имеющим регистрационное удостоверение Российской Федерации (указать наименование, серию, срок годности набора).

13. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

Таблица 7. Символы, применяемые при маркировке

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Использовать до		Запрет на повторное применение
	Дата изготовления		Изготовитель
	Номер серии		Не допускать воздействия солнечного света
	Номер по каталогу		Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Обратитесь к инструкции по применению		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Предел температуры		Не использовать при повреждении упаковки
	Беречь от влаги		Биологический риск
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

14. ШТРИХКОД

Таблица 8. Штрихкод набора реагентов «ВГС-Core-Ag-ИМБИАН-ИФА»

№ комплекта	Штрихкод
Комплект №1	4620102804793
Комплект №2	4620102804809
Комплект №3	4620102804816
Комплект №4	4620102804823

Прешнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 16

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова

12.02.2023 г.

