

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ИМБИАН ЛАБ»

/В.В.Осипова/

2023 г.



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

**Набор реагентов для качественного иммуноферментного
определения антител IgM к вирусу гепатита Е в сыворотке и
плазме крови «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА»
по ТУ 21.20.23-485-41390295-2023**

С ИЗМЕНЕНИЕМ №1

REF

VE-017



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 антител IgM к вирусу гепатита Е в сыворотке и плазме крови «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-485-41390295-2023 (далее Набор реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА»).

Назначение набора

Набор реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» предназначен для качественного определения антител класса М (IgM) к вирусу гепатита Е в сыворотке и плазме (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Популяционно-демографические особенности

Выявление антител к ВГЕ целесообразно проводить у следующих групп населения:

- ветеринарные работники, работники животноводческих комплексов, охотники, жители сельской местности, занимающиеся выращиванием поросят;
- сотрудники коммунально-хозяйственных служб;
- люди с иммунодефицитными состояниями;
- пациенты, проходящие иммуносупрессивную терапию на фоне трансплантации органов;
- туристы и лица, прибывшие из стран, расположенных в эндемичных по гепатиту Е регионах мира;
- пациенты с комбинированной соматической патологией (сахарным диабетом, ишемической болезнью сердца, аутоиммунным гепатитом, а также находящиеся на гемодиализе) или хронической вирусной патологией печени (вирусными гепатитами В и С);
- лица, страдающие алкоголизмом.

Функциональное назначение

Вспомогательное средство в диагностике.

Показания

- при симптомах вируса гепатита Е;
- при гестозе второй половины беременности;
- при субфебрилитете после посещения эндемичных регионов.

Противопоказания

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

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

К(+) содержит сыворотку крови человека, инаktivированную нагреванием при температуре 56 ± 1 °C в течение 3 ч.

Иммуносорбент содержит мышинные моноклональные антитела против IgM человека.

Изделие не содержит 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 «ВГЕ IgM захват-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 «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» представлена в таблице 1.

Таблица 1. Состав набора реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА»

Название компонента	Описание компонента	Комплект №1	Комплект №2	Комплект №3	Комплект №4
Иммуно-сорбент	96-луночный разборный до лунок полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированными мышинными моноклональными антителами против IgM человека	1 шт.	2 шт.	5 шт.	5 шт.
К(+)	Инаktivированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащей антитела IgM к ВГЕ. Прозрачная жидкость желтого цвета. <i>Содержит фенол (0,1%).</i> <i>pH = 7.2±0.4</i>	1 флакон (1,0 мл)	1 флакон (2,0 мл)	1 флакон (5,0 мл)	1 флакон (5,0 мл)

	Готов к применению.				
К(-)	Отрицательный контрольный образец, не содержащий антитела IgM к ВГЕ. Прозрачная жидкость синего цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1%).</i> <i>pH = 9.2±0.4</i> Готов к применению.	1 флакон (2,0 мл)	1 флакон (4,0 мл)	1 флакон (10,0 мл)	1 флакон (10,0 мл)
ФСБ-Т	Концентрат промывочного раствора. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. <i>Содержит бензоат натрия (0,2%).</i> <i>pH = 6.4±0.4</i> Требуется разведение.	1 флакон (50,0 мл)	1 флакон (100,0 мл)	1 флакон (250,0 мл)	1 флакон (250,0 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость от синего до фиолетового цвета, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании. <i>Содержит проклин-300 (0,1%).</i> <i>pH = 9.2±0.4</i> Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)	1 флакон (25,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)	1 флакон (100,0 мл)
РК	Раствор конъюгата. Рекомбинантные антигены ВГЕ, конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость зеленого цвета, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании. <i>Содержит фенол (0,1%).</i> <i>Содержит проклин-300 (0,1%).</i> <i>pH = 7.2±0.4</i> 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. <i>Содержит бензоат натрия (0,2%).</i> <i>pH = 5.2±0.4</i> 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.	1 флакон (13,0 мл)	1 флакон (25,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)	1 флакон

	Содержит кислоту серную (1,0 моль/литр). $pH \leq 1.0$ Готов к применению.				(250,0 мл)
Пленка для заклеивания планшета	Двухслойная пленка прямоугольной формы, состоящая из прозрачного и непрозрачного (белого цвета) слоев (135,0*82,0 мм)	3 шт.	6 шт.	15 шт.	-
Ванночка	Пластиковая ванночка с пирамидальным углублением (30 мл, 100,0*47,0*19,0 мм)	3 шт.	6 шт.	15 шт.	-
Наконечник	Пластиковые наконечники цилиндрической формы (250 мкл; 52*7,35*0,45 мм)	24 шт.	48 шт.	120 шт.	-
Инструкция по применению		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**, **РРО** и **Стоп-реагент** являются унифицированными неспецифическими компонентами набора реагентов и могут применяться для исследования в любых сериях наборов реагентов.

1.2. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов основан на методе «захвата» иммуноферментного анализа. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы моноклональные антитела к IgM антителам человека (вторичные антитела). В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgM антител к ВГЕ образуется комплекс (вторичные антитела-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с раствором конъюгата РК (рекомбинантный антиген ВГЕ, меченный пероксидазой хрена). При добавлении раствора ТМБ в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением Стоп-реагента. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству IgM к антигену ВГЕ в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра (фотометра).

2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

2.1. Чувствительность

Чувствительность набора реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-ВГЕ контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ) составляет 100%.

2.2. Специфичность

Специфичность набора реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-ВГЕ контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ) составляет 100%.

2.3. Аналитическая чувствительность

Все образцы контрольной панели отраслевого стандартного образца «ОСО - ВГЕ» (ФИЦ ФТМ, Россия) с концентрацией антител к ВГЕ 0,2 МЕ/мл и более должны определяться как положительные. Т.е. аналитическая чувствительность должна быть 0,2 МЕ/мл.

2.4. Повторяемость

В рамках внутренних испытаний:

1) внутрисерийный коэффициент вариации результатов постановки на наборе реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 3 положительных образцов, содержащих IgM антитела к ВГЕ, в 30 повторах на трёх сериях каждого комплекта не превышает 8,0 %;

2) межсерийный коэффициент вариации результатов постановки на наборе реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 3 положительных образцов, содержащих IgM антител к ВГЕ, в 30 повторах на трёх сериях каждого комплекта не превышает 8,0 %.

В рамках технических испытаний повторяемость результатов постановки на наборе реагентов «ВГЕ IgM захват-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 «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 10 положительных образцов сыворотки и 10 положительных образцов плазмы, содержащих антиген ВГА, в 10 повторах каждого образца не превысили 8,0 %.

2.5. Правильность

Правильность определения положительного контроля в ходе проведения внутренних испытаний набора реагентов составила 100%.

2.6. 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.

Внутрисерийные и межсерийные коэффициенты вариации результатов при определении IgM антител к ВГЕ в исследуемых образцах сыворотки и плазмы (с ЭДТА, цитратом натрия и гепарином) не превышают 8,0 %.

2.7. Перекрестная реактивность

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 271 заведомо отрицательных сыворотках крови человека, не содержащих антитела IgM и 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 С, ВИЧ-1,2.

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

2.8. Интерферирующие вещества

В рамках клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа набора «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» проводили на образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих антитела IgM к ВГЕ.

На результат анализа не оказывают влияние 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) и мочевины (до 800,0 мг/л) в клинических образцах.

2.9. Эквивалентность

В рамках клинических испытаний проводили оценку эквивалентности результатов анализа образцов сыворотки и плазмы крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА),

полученных от одного и того же пациента, содержащих и не содержащих антитела к ВГЕ, методом ИФА при постановке по процедуре №1 (термошейкер) и процедуре №2 (термостат).

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

2.10. 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 (24 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 (24 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 (24 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.

2.11. Диагностическая чувствительность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность выявления антител IgM к ВГЕ при исследовании сыворотки и плазмы крови (с ЭДТА, цитратом натрия и гепарином) определяли на 310 положительных образцах, показана 100 % чувствительность (ДВ 95 %, ДИ: 99,03 % - 100 %).

2.12. Диагностическая специфичность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность выявления антител IgM к ВГЕ при исследовании сыворотки и плазмы крови (с ЭДТА, цитратом натрия и гепарином) определяли на 618 отрицательных образцах, показана 100 % специфичность (ДВ 95 %, ДИ: 99,51 - 100 %).

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий») – класс 3.

Набор реагентов предназначен только для профессионального применения. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». При работе с набором реагентов требуется соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

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.

Сыворотка крови человека, использованная для приготовления положительного контрольного образца К(+), инаktivирована нагреванием при температуре 56±1 °С в течение 3

ч., содержит антитела IgM к ВГЕ и не содержит антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

В состав компонентов **К(+)**, **К(-)**, **РРО**, **РК**, **ТМБ**, **ФСБ-Т** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **К(-)**, **РРО**, **РК** содержат 0,1 % проклина 300; **К(+)**, **РК** – 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**, **РРО** 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 °С
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 раствором конъюгата **РК**, раствором тетраметилбензидина **ТМБ**.

Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую, после промывки, для раствора конъюгата **РК** и раствора тетраметилбензидина **ТМБ**.

Рекомендуется для отбора раствора конъюгата **РК** и раствора тетраметилбензидина **ТМБ** использовать разные дозаторы пипеточные. 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 антитела IgM к ВГЕ не могут быть единственным критерием для диагностики или исключения ВГЕ инфекции, или для определения статуса инфекции.

Отрицательный результат исследования при наличии инфицирования ВГЕ возможен:

- во время серонегативного окна – период времени при ВГЕ, длящийся с момента инфицирования до выработки иммунной системой антител; серонегативное окно может составлять от 2-х недель до 6-ти месяцев;
- 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;
- наконечник одноразовый к дозаторам лабораторным вместимостью от 10 до 1000 мкл;
- ванночка 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;
- емкость с крышкой для жидкого дезинфицирующего средства;

- вода дистиллированная (ГОСТ Р 58144-2018) или очищенная (ФС.2.2.0020.18 от 31.10.2018);
- 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 – 10 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 до 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, производитель набора реагентов рекомендует 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 производитель настоятельно рекомендует еще раз прочитать раздел «Обеспечение качества исследований» 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.

Внимание!

К(+), К(-), РРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

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

Компонент **ФСБ-Т** представлен в виде концентрата. Требуется 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 «зип-лок». 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 дистиллированной водой. Затем - 70 % этиловым спиртом. 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.

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

Возможные варианты разведения **ФСБ-Т** представлены в таблице 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.

Таблица 3. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Количество используемых стрипов, шт.	20-кратное разведение ФСБ-Т		25-кратное разведение ФСБ-Т		26-кратное разведение ФСБ-Т	
	ФСБ-Т, мл	Вода*, мл	ФСБ-Т, мл	Вода*, мл	ФСБ-Т, мл	Вода*, мл
1	4,0	76,0	4,0	96,0	4,0	100,0
2	8,0	152,0	8,0	192,0	8,0	200,0
3	12,0	228,0	12,0	288,0	12,0	300,0
4	16,0	304,0	16,0	384,0	16,0	400,0
5	20,0	380,0	20,0	480,0	20,0	500,0
6	24,0	456,0	24,0	576,0	24,0	600,0
7	28,0	532,0	28,0	672,0	28,0	700,0
8	32,0	608,0	32,0	768,0	32,0	800,0
9	36,0	684,0	36,0	864,0	36,0	900,0
10	40,0	760,0	40,0	960,0	40,0	1000,0
11	44,0	836,0	44,0	1056,0	44,0	1100,0
12	50,0	950,0	50,0	1200,0	50,0	1250,0

Примечание: * вода дистиллированная по ГОСТ 58144-2018 «Вода дистиллированная. Технические условия» или воду очищенную 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 100 мкл K(+) . Внести в две лунки по 100 мкл K(-) . Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1 - K(+), лунки B1 и C1 – K(-).	При использовании 1 стрипа допускается внесение K(-) в 1 лунку.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл РРО (РРО перед внесением интенсивно взболтать) , а затем по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При внесении анализируемых образцов с помощью полуавтоматической пипетки тщательно перемешать содержимое лунок, при этом должна наблюдаться цветовая индикация в лунках. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. 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 25 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об./мин ; температура инкубации: 37±1°C .	
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.	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл РК (РК перед внесением интенсивно взболтать) . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин. <u>Внимание!</u> Остатки РК из ванночек утилизировать: повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об./мин ; 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 .	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.

	По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	
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 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об./мин; температура инкубации: 37±1°C.	Внимание! Инкубацию проводить в защищенном от света месте.
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 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.

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 100 мкл К(+). Внести в две лунки по 100 мкл К(-). Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка А1 - К(+), лунки В1 и С1 – К(-).	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл РРО (РРО перед внесением интенсивно взболтать), а затем по 10 мкл анализируемых образцов руководствуясь схемой, приведённой на рисунке 1. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При внесении анализируемых образцов с помощью полуавтоматической пипетки тщательно перемешать содержимое лунок, при этом должна наблюдаться цветовая индикация в лунках. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. 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 30 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37±1 °C.	
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	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.

	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.	
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл РК (РК перед внесением интенсивно взболтать). Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 мин. <u>Внимание!</u> Остатки РК из ванночек утилизировать: повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37±1 °С.	
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.	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки Иммуносорбента 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 термостат. Температура инкубации: 37±1°С (допускается инкубация при температуре от 15 до 30 °С без использования термостата).	<u>Внимание!</u> Инкубацию проводить в защищенном от света месте.
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 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 «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить также, как и для ручной постановки анализа.

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

Технические характеристики

Значение ОП в лунке с **K(+)** должно быть не менее 0,500 о.е.

Среднее значение в лунках с **K(-)** ОП $K(-)_{\text{ср}}$ должно быть не более 0,200 о.е.

При использовании 1 стрипа значение ОП $K(-)_{\text{ср}}$ среднее не определяют, значение ОП в лунке с **K(-)** должно быть не более 0,200 о.е.

Если полученные значения ОП в лунках с контрольными образцами не соответствуют критериям правильности теста, результаты теста 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 **K(-)** по формуле:

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

Рассчитать ОП критический уровень $\text{ОП}_{\text{крит}}$ (cut off):

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

При использовании одного стрипа:

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

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

Или рассчитайте коэффициент позитивности (КП):

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

Интерпретация результатов

Если ОП анализируемого образца меньше ($<$) $\text{ОП}_{\text{крит}}$ (или $\text{КП} < 1,0$), то результат исследования образца считают отрицательным: антитела класса М (IgM) к вирусу гепатита Е не обнаружены.

Если ОП анализируемого образца больше ($\geq$) $\text{ОП}_{\text{крит}}$ (или $\text{КП} \geq 1,0$), то результат исследования образца считают положительным: антитела класса М (IgM) к вирусу гепатита Е обнаружены.

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-противоэпидемиологических (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 РРО и ФСБ-Т следует утилизировать, как отходы класса А.

Неиспользованные Иммуносорбент, К(+), К(-) и РК 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	24 месяца	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Внимание! Замораживание не допускается
Транспортирование	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8 °C
	15 суток	при температуре от 9 до 30 °C
Вскрытые компоненты: К(+), К(-), ФСБ-Т, ТМБ, РК, РРО, Стоп-реагент, Иммуносорбент	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8 °C
	не более 10 суток	при температуре от 15 до 30 °C
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	не более 15 суток	при температуре от 18 до 28 °C
	не более 45 суток	при температуре от 2 до 8 °C

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «ВГЕ IgM захват-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 «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА» направлять по адресу предприятия-изготовителя: Общество с ограниченной ответственностью «ИМБИАН ЛАБ» (ООО «ИМБИАН ЛАБ»), 630559, Новосибирская область, г.о. рабочий посёлок Кольцово, р.п. Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2, тел.: +7 (383) 209-34-54, info@imbian.ru, www.imbian.ru.

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		

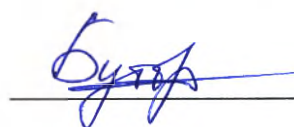
14. ШТРИХКОД

Таблица 8. Штрихкод набора реагентов «ВГЕ IgM захват-ИМБИАН-ИФА»

№ комплекта	Штрихкод
Комплект №1	4620102805165

Комплект №2	4620102805189
Комплект №3	4620102805196
Комплект №4	4620102805202

Разработал

 Д.В. Буторин

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

18 лист 06

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова

30.10 2023 г.

