

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Вектоген А – Ig М – стрип» (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита А (ВГА) в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использован для дифференциальной диагностики гепатита А в клинических и эпидемиологических исследованиях, для отбраковки донорских сывороток.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы. Для исследования небольших партий проб возможны 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контрольные образцы.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Специфическими компонентами набора являются моноклональные антитела против иммуноглобулинов класса М человека, иммобилизованные в лунках планшетов, конъюгат моноклональных антител к ВГА с пероксидазой хрена, антиген ВГА, положительный и отрицательный контрольные образцы. В лунках планшета при добавлении исследуемых образцов во время первой инкубации происходит связывание имеющихся в образце иммуноглобулинов класса М (IgM) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами против IgM человека.

D-0352

3

Во время второй инкубации связавшиеся IgM к ВГА взаимодействуют с добавленным в лунки комплексом антигена ВГА и моноклональных антител к антигену ВГА, конъюгированных с пероксидазой.

Количество связавшегося комплекса определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и спектрофотометрически измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-волне в диапазоне 620–650 нм. Степень окраски пропорциональна концентрации IgM к ВГА в анализируемом образце.

3. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными антителами к IgM человека – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K⁺; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K⁻; прозрачная жидкость желтого цвета) – 1 фл., 3,0 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС; жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС; бесцветная жидкость с легкой опалесценцией) – 1 фл., 12 мл;

- конъюгат (моноклональные антитела к ВГА, меченые пероксидазой хрена; жидкость синего цвета), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- антиген ВГА, инактивированный (бесцветная жидкость с легкой опалесценцией), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК; бесцветная жидкость с легкой опалесценцией) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; бесцветная прозрачная жидкость, возможно выпадение осадка солей) – 1 фл., 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР; бесцветная прозрачная жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ; прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 1 мл;
- стоп-реагент (бесцветная прозрачная жидкость) – 1 фл., 12 мл.
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.;
- планшет для предварительного разведения образцов – 1 шт.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Специфичность при проверке отрицательных сывороток стандартной панели ОСО 42-28-382-05, не содержащих иммуноглобулины класса М к ВГА, составляет 100%.

4.2. Чувствительность при проверке положительных сывороток стандартной панели ОСО 42-28-382-05, содержащих иммуноглобулины класса М к ВГА, составляет 100%.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента, являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сывороток крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные передавать ВИЧ, вирусы гепатита или другой возбудитель вирусных инфекций.

5.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

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

5.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

5.8. Точность и воспроизводимость результатов анализа зависят от строгого выполнения следующих правил:

- не используйте реагенты с истекшим сроком годности;
- при постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Тх25, РПРС, СБР, ТМБ, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест»;

– запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;

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

– не допускайте высыхания стрипов в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов;

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

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

– необходимо следить за состоянием промывочного устройства – регулярно обрабатывать шланги и емкости 70% этиловым спиртом;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и рабочего раствора ТМБ; **обращаем Ваше особое внимание** на то, что малейшее, даже не видимое глазом загрязнение пипеток раствором конъюгата может

привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ, поэтому необходимо протирать рабочую поверхность стола и конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом перед внесением ТМБ в СБР;

– проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;

– не изменяйте протокол исследования;

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

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес. Следует избегать многократного замораживания/оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

6.4. Для отбора исследуемых образцов и компонентов набора реагентов использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$ или термостатируемый шейкер орбитального типа на 500–800 об/мин, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл;
- промыватель автоматический для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100, 1000 мл;
- флаконы стеклянные, вместимостью 10–15 мл;
- вода дистиллированная.

8. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Для повышения чувствительности анализа и сокращения времени реакции рекомендуем проводить инкубацию на термостатической платформе PST-60HL при перемешивании 500–800 об./мин.

8.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, при температуре от 18 до 25°C не менее 30 мин.

8.2. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

8.2.1. Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

8.2.2. После первого вскрытия флаконы сразу плотно закрыть закручивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при $2-8^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности набора.

8.3. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

Хранение: при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Количество используемых стрипов	Смесь антигена ВГА и конъюгата		Рабочий раствор ТМБ		Рабочий раствор ФСБ-Т	
	Конъюгат, концентрат (мкл)	РРК (мл)	Антиген ВГА, концентрат (мл)	ТМБ, концентрат (мкл)	СБР (мл)	Дистил. вода (мл)
1	80	0,7	0,1	70	1,0	До 50
2	160	1,4	0,2	140	2,0	До 100
3	240	2,1	0,3	210	3,0	До 150
4	320	2,8	0,4	280	4,0	До 200
5	400	3,5	0,5	350	5,0	До 250
6	480	4,2	0,6	420	6,0	До 300
7	560	4,9	0,7	490	7,0	До 350
8	640	5,6	0,8	560	8,0	До 400
9	720	6,3	0,9	630	9,0	До 450
10	800	7,0	1,0	700	10,0	До 500
11	880	7,7	1,1	770	11,0	До 550
12	960	8,4	1,2	840	12,0	До 600

8.4. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

8.5. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Исследуемые образцы развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток. Для этого в лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельных образцов сывороток, тщательно перемешать. При этом малиновый цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, данный образец может дать неправильный результат.

Хранение: до 3 часов при 18–25°C.

8.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ФСБ-Т

Рабочий раствор ФСБ-Т приготовить разведением исходного концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином в 25 раз. Необходимые для проведения анализа объемы концентрата ФСБ-Т и дистиллированной воды, в зависимости от числа используемых стрипов, определяют по таблице расхода компонентов набора реагентов.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Хранение: не более 3 суток при 2–8°C.

8.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ СМЕСИ АНТИГЕНА ВГА И КОНЬЮГАТА

В соответствии с числом стрипов (см. таблицу расхода реагентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата (РРК), добавить соответствующее количество концентрата конъюгата и антигена ВГА, тщательно перемешать.

Хранение: до 3 часов при 18–25°C.

8.8. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

Внимание! Рекомендуется выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином. Посуду и наконечники для пипетки, контактирующие с раствором ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду и наконечники ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество СБР, добавить соответствующее

количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

Хранение: не более 3 часов при температуре 18–25°C в темноте.

9. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА (ИФА)

9.1. Для внесения контрольных образцов рекомендуется следующая схема:

при использовании:

- 1 стрипа – 1 лунка К+ и 2 лунки К–
- 2 стрипов – 1 лунка К+ и 3 лунки К–
- 3 и более – 2 лунки К+ и 3 лунки К–.

Согласно схеме, в лунки стрипа, например, А-1 и В-1 внести по 100 мкл К⁺. В лунку С-1 – 100 мкл К⁺.

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно подготовленных исследуемых образцов (п. 8.5.), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемый образец разбавляется в лунке в 100 раз.

Для повышения достоверности результатов каждый образец вносят в 2–3 лунки и полученные результаты параллельных анализов усредняют.

Планшет закрыть пленкой и инкубировать 60 мин при 37°C в термостате или 30 мин при 37°C в термошейкере с интенсивностью перемешивания 500–800 об./мин.

9.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующей

щим раствором. Содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть лунки планшета 5 раз рабочим раствором ФСБ-Т (п. 8.6.) с помощью промывочного устройства. При этом в каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе одного промывания. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

9.3. Во все лунки планшета внести по 100 мкл смеси антигена ВГА и конъюгата (п. 8.7.).

Планшет закрыть пленкой и инкубировать 90 мин при 37°C в термостате или 45 мин при 37°C на термошейкере с интенсивностью перемешивания 500–800 об./мин.

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

9.4. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз рабочим раствором ФСБ-Т (п. 8.6.), соблюдая этапы промывки п. 9.2.

9.5. Внести в каждую лунку по 100 мкл рабочего раствора ТМБ (п. 8.8.) и инкубировать в темноте в течение 25 мин при 18–25°C.

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

9.6. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реактанта.

Избегайте контакта с раствором ТМБ и стоп-реактантом. В случае попадания раствора ТМБ или стоп-реактанта на кожу и слизистые оболочки необходимо немедленно смыть их большим количеством проточной воды.

9.7. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допускается измерение оптической плотности на одной длине волны – 450 нм.

Измерение оптической плотности проводить через 2–3 мин после остановки реакции. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9.8. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

9.8.1. Термостат

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных в РПРС.
- Инкубировать:** 60 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочий раствор ФСБ-Т, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл смеси антигена ВГА и конъюгата.
- Инкубировать:** 90 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочий раствор ФСБ-Т, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора ТМБ.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реактанта.
- Измерить:** ОП при 450 нм/референсная длина волны 620–650 нм.

9.8.2. Термошейкер

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных в РПРС.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C, 500–800 об/мин.
- Промыть:** рабочий раствор ФСБ-Т, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл смеси антигена ВГА и конъюгата.
- Инкубировать:** 45 мин, 37°C, 500–800 об/мин.
- Промыть:** рабочий раствор ФСБ-Т, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора ТМБ.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реактанта.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–650 нм.

10. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследований оценивать только в том случае, если среднее значение оптической плотности отрицательного контрольного образца (ОП К⁻) не превышает 0,2 о.е., а значение оптической плотности положительного контрольного образца (ОП К⁺) не менее 0,8 о.е.

Положительными считают пробы с оптической плотностью равной или превышающей критическое значение (ОП_{крит.}), которое вычисляют по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{К}^- + 0,3$$

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для интерпретации результатов исследования рекомендуем использовать коэффициент позитивности (КП):

$$\text{КП} = \frac{\text{ОП}_{\text{иссл. сыв.}}}{\text{ОП}_{\text{крит.}}}$$

Если КП < 1, результат анализа считают **отрицательным**.

Если КП ≥ 1, результат анализа считают **положительным**.

Положительные сыворотки, попавшие в зону 1 ≤ КП ≤ 2,5, имеют низкие концентрации IgM к ВГА. Такое содержание IgM к ВГА может соответствовать началу инфекционного процесса, либо концу заболевания – восстановительному периоду гепатита А, когда в крови у

Таблица интерпретации результатов серологических тестов

КП IgM к ВГА	Другие маркеры ВГА-инфекции		Возможные варианты определения стадии ВГА-инфекции
	В сыворотке	В фекалиях	
1 ≤ КП ≤ 2,5	IgG ВГА ⁺	Ag ВГА ⁻	Восстановительный период гепатита А (стадия выздоровления)
1 ≤ КП ≤ 2,5	IgG ВГА ⁻	Ag ВГА ⁺	Начало клинического периода гепатита А (начало стадии разгара болезни)
1 ≤ КП ≤ 2,5	IgG ВГА ⁻	Ag ВГА ⁻	Следует смотреть нарастающие концентрации IgM; если увеличение содержания IgM имеется – это начало клинического периода гепатита А
КП ≥ 2,5	IgG ВГА ⁻ или IgG ВГА ⁺	Ag ВГА ⁺ или Ag ВГА ⁻	Стадия разгара болезни (клинический период гепатита А)

обследуемого кроме IgM имеются в высокой концентрации IgG к ВГА.

В том случае, когда в исследуемой сыворотке содержание IgM к ВГА определяется в низкой концентрации, а IgG к ВГА отсутствуют, следует провести анализ парных сывороток в динамике для оценки изменения концентрации IgM в 1-й и 2-й сыворотках больного, взятых с интервалом 7–14 дней. Парные сыворотки должны тестироваться в двух повторах во время одной постановки анализа.

Увеличение КП для 2-го образца, взятого через 7–14 дней, в сравнении с КП 1-го образца свидетельствует о возрастании концентрации IgM в сыворотке крови и указывает на начало инфекции ВГА.

Положительные образцы с КП $\geq 2,5$ имеют высокое содержание IgM к ВГА, обычно соответствующее клиническому периоду гепатита А (стадии разгара болезни).

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

12.1. Набор реагентов «Вектогеп А-IgM – стрип» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (12 мес.). Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

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

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская обл.,
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46,
тел./факс (383) 332-67-49,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путем
ВИЧ-инфекция
TORCH-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

13 (тринадцать) листов

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"

Борисов В.Ю.

24 2020 г.





"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю. Борисов

"19" 11. 2020г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к вирусу гепатита А» "ИФА-антиВГА-IgM"

Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/06382 от 21 июня 2018 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов "Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к вирусу гепатита А" "ИФА-антиВГА-IgM" предназначен для качественного выявления видоспецифических антител класса М к вирусу гепатита А в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для обследования больных при подозрении на гепатит А.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Гепатит А — болезнь печени, вызываемая вирусом гепатита А. Вирус распространяется, в основном, при потреблении неинфицированным (или невакцинированным) человеком пищевых продуктов или воды, загрязненных фекалиями инфицированного человека. Болезнь тесно связана с отсутствием безопасной воды или пищи, ненадлежащей санитарией и плохой личной гигиеной.

В отличие от гепатита В и С инфицирование гепатитом А не приводит к развитию хронической болезни печени и редко заканчивается смертельным исходом, но может вызывать симптомы, ослабляющие здоровье, и молниеносный гепатит (острую печеночную недостаточность), который зачастую является смертельным.

Вирус гепатита А является одной из наиболее частых причин инфекции пищевого происхождения. Вирусы гепатита А продолжают существовать в окружающей среде и могут выдерживать процессы производства пищевых продуктов, обычно используемые для инактивации бактериальных патогенов и/или борьбы с ними.

В развивающихся странах с плохими санитарными условиями и гигиенической практикой большинство детей (90%) приобретают вирусную инфекцию гепатита А до достижения ими 10-летнего возраста.

Люди, инфицированные в детстве, не испытывают каких-либо заметных симптомов. Эпидемии происходят редко, так как дети более старшего возраста и взрослые люди, как правило, имеют иммунитет. Показатели заболеваемости с клиническими проявлениями в этих районах низкие, и вспышки болезни случаются редко.

Гепатит А передается, главным образом, фекально-оральным путем. Вспышки болезни, передающейся через воду, происходят нечасто и обычно связаны с загрязнением воды, сточными водами или с ненадлежащей обработкой воды. В семьях это может происходить из-за грязных рук, когда инфицированный человек готовит еду для членов семьи. Вирус может также передаваться при тесном физическом контакте с инфицированным человеком, но при случайных контактах людей вирус не передается.

Признаки и симптомы болезни у взрослых людей наблюдаются чаще, чем у детей. Вероятность развития тяжелой формы и фатальных последствий выше в пожилом возрасте. У инфицированных детей в возрасте до шести лет обычно не наблюдается каких-либо заметных симптомов, и лишь у 10% развивается желтуха. Среди детей более старшего возраста и взрослых людей инфекция обычно приводит к появлению более тяжелых симптомов, а желтуха развивается более чем в 70% случаев заболевания. Иногда происходят рецидивы гепатита А. У только что выздоровевшего человека развивается еще один острый эпизод болезни. Однако за этим следует выздоровление. Случаи гепатита А клинически не отличаются от других типов острого вирусного гепатита. Точный диагноз можно поставить путем выявления в крови специфических для НАV антител IgM. Дополнительные тесты включают полимеразную цепную реакцию с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) для выявления РНК вируса гепатита А, но для этого исследования необходимо специальное лабораторное оборудование.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	мышинные антитела против тяжелых цепей IgM человека, сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном; допускается отдельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)	1 планшет
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный; сыворотка крови человека, содержащая антитела класса М к ВГА; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость с желтым оттенком различной интенсивности	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный; сыворотка крови человека, не содержащая антител к ВГА; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость с желтым оттенком различной интенсивности	1 фл. (0,5 мл)
Антиген ВГА (АГвГА)	инактивированный; прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (5,5 мл)
Конъюгат	5-кратный концентрат раствора антител кролика или морской свинки класса G к ВГА, меченных пероксидазой хрена; прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (1,2 мл)
Раствор для разведения конъюгата (РРК)	прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (4,8 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная жидкость фиолетового цвета; возможно выпадение осадка	1 фл. (12 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	1 фл. (40 мл)
Раствор индикаторный (РИ)	прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость	1 фл. (13 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (12,5 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т(х25), ЦБР, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов или их смешение.

3. Допускается использование ТМБ из разных серий набора.

4. K^+ , $K^+_{пор}$ и K^- не содержат HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2.

5. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор укомплектован принадлежностями:

Вспомогательными пластиковыми (ПВХ) емкостями – 4 шт.

Клейкой пленкой для планшета – 4 шт.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации набора позволяет одномоментное исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 4 лунки). Предусмотрена возможность проведения раздельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число иссл.образцов	1-4	5-12	13- 20	21- 26	29- 36	37- 44	45- 52	53- 60	61- 68	69- 76	77- 84	85- 92

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце антител класса М к ВГА (анти-ВГА-IgM) они связываются с мышинными антителами против тяжелых цепей IgM человека (анти-IgM), сорбированными на поверхности лунок планшета, после внесения в лунки антигена ВГА ($АГ_{ВГА}$) и конъюгата (анти-ВГА-ПХ) комплекс (анти-IgM)-(анти-ВГА-IgM) связывается с ними с образованием комплекса [(анти-IgM)-(анти-ВГА-IgM)-(АГ_{ВГА})-(анти-ВГА-ПХ)], наличие которого выявляется по реакции с субстратом пероксидазы – тетраметилбензидином, в результате которой содержимое лунок окрашивается в голубой цвет, изменение цвета регистрируется по оптической плотности раствора в лунке планшета с помощью спектрофотометра.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, содержащих антитела класса М к вирусу гепатита А (СОП⁺-026) как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Аналитическая специфичность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, не содержащих антитела класса М к вирусу гепатита А (СОП-026) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов (ДИ 95%): 99,21%-100% (с доверительной вероятностью 95 %).

Диагностическая специфичность набора реагентов (ДИ 95%): 99,71%-100% (с доверительной вероятностью 95 %).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 98,05-100 %

Плазма крови человека: 98,68- 100 %

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,51-100 %

Плазма крови человека: 99,32- 100 %

Перекрестных иммунологических реакций с образцами крови человека, содержащими антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), антитела к *Treponema pallidum*, антитела к вирусу гепатита С, HBsAg, в ходе клинических испытаний набора реагентов не выявлено.

Интерферирующие вещества: гемоглобин, билирубин и триглицериды, даже в повышенных концентрациях (гемоглобин – до 200 г/л; билирубин – до 120 мкмоль/л; триглицериды – до 11 ммоль/л), не оказывают влияния на результат анализа.

Воспроизводимость результатов составила 100 %.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 10 мкл.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.), ГОСТ 31508.

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003).

РРО содержит натрия азид, конъюгат - мертиолят в безопасной концентрации. Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

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

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

"РУЧНАЯ" ПОСТАНОВКА

Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин,

Термостат на 37 °С,

Термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и температуре (37°С ± 1°С).

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При использовании целого планшета содержимое флакона с ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ФСБ-Т(х25), мл	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37
Вода очищенная, мл	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление рабочего разведения конъюгата

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

Конъюгат развести РРК в соотношении 1:4.

При использовании целого планшета содержимое флакона с конъюгатом (1,2 мл) внести во флакон с РРК (4,8 мл), тщательно перемешать

При дробной постановке использовать соотношения объемов конъюгата и РРК, указанные в табл. 2 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 2

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Конъюгат, мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1
РРК, мл	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4	2,8	3,2	3,6	4,0	4,4

Стабильность рабочего разведения конъюгата при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, К⁺, К⁻, РРО, АГ_{ВГА}, РИ, стоп-реагент – готовы к применению. РРО перед использованием необходимо перемешать из-за возможного выпадения осадка.

Примечание: РРО следует предохранять от длительного воздействия прямого солнечного света, чтобы исключить изменения цвета раствора.

Проведение ИФА

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

2. Во все лунки планшета, кроме А1, внести по 90 мкл РРО. Затем в лунку А1 внести 100 мкл К⁺, в лунки В1, С1, D1 – по 10 мкл К⁻ и в остальные – по 10 мкл исследуемых образцов.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

Процедура 1 – 30 мин. при температуре 37°С на шейкере при частоте вращения платформы 500 об/мин;

Процедура 2 – 40 мин при температуре 37°С в термостате.

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет ФСБ-Т.

Рекомендуется использовать:

- режим отмывки с переполнением – «overflow» - с внесением в лунки по 600-700 мкл рабочего промывочного раствора;

- поперечную аспирацию раствора из лунок – режим «crosswise».

Необходимо следить за полной аспирацией после каждого цикла отмывки (остаточный объем в лунках не должен превышать 10 мкл).

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 минут.

5. Во все лунки планшета внести по 50 мкл АГ_{ВГА} и по 50 мкл рабочего разведения конъюгата. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

Процедура 1 – 30 мин. при температуре 37°С на шейкере при частоте вращения платформы 500 об/мин;

Процедура 2 – 30 мин при температуре 37°С в термостате.

6. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет промывочным раствором, как указано в п. 4.

7. Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора индикаторного.

8. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой и выдержать 20 мин при температуре 37°С в термостате.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился раствор индикаторный) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и приступить к регистрации результатов (ОП реакционной смеси после внесения стоп-реагента стабильна не более 10 мин).

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,50;

среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,25.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Исследуемые образцы учитываются:

Рассчитывают критическое значение оптической плотности ($ОП_{кр}$) по формуле:

$$ОП_{кр} = 0,2 + \overline{ОП}_{K^-}$$

где $\overline{ОП}_{K^-}$ – среднее значение ОП в лунках с K^- ;

0,2 – поправочный коэффициент.

Исследуемый образец считать положительным, если ОП исследуемого образца больше или равно $ОП_{кр}$,

Исследуемый образец считать отрицательным, если ОП исследуемого образца меньше $ОП_{кр}$.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается.

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов "Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к вирусу гепатита А", "ИФА-антиВГА-IgM" соответствует ТУ 9398-026-70423725-2020,

Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности. По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1А. ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным, для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия, потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб"
по научной работе


С. Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
«19» _____ 2020 г.


П. К. Варнавичус

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА (ИФА-антиВГА-IgM)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	во все лунки планшета, кроме A1, – по 0,090 мл РРО; затем в лунку A1 – 0,100 мл K ⁺ , в лунки B1, C1, D1 – по 0,010 мл K ⁻ и в остальные – по 0,010 мл исследуемых образцов
Инкубация	Инкубировать в соответствии с выбранной процедурой: Процедура 1 – 30 мин. при температуре 37°C на шейкере при частоте вращения платформы 500 об/мин; Процедура 2 – 40 мин при температуре 37°C в термостате.
Промыть	5 раз ФСБ-Т
Внести	во все лунки по 50 мкл АГ _{ВГА} и по 50 мкл рабочего разведения конъюгата
Инкубация	Инкубировать в соответствии с выбранной процедурой: Процедура 1 – 30 мин. при температуре 37°C на шейкере при частоте вращения платформы 500 об/мин; Процедура 2 – 30 мин при температуре 37°C в термостате.
Промыть	5 раз ФСБ-Т
Внести	во все лунки по 100 мкл раствора индикаторного.
Инкубация	20 мин, 37 °C в термостате
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«19» 11 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

8 (восемь) лист 06

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"

Борисов В.Ю.
«19» 11 2020 г.