

Содержание

I. Введение.....	3
II. Назначение.....	3
III. Состав набора.....	3
IV. Аналитические и диагностические характеристики набора.....	4
V. Меры предосторожности.....	4
VI. Инструкции по безопасности.....	4
VII. Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов.....	5
VIII. Отбор и подготовка образцов.....	5
IX. Подготовка реагентов.....	6
X. Проведение анализа.....	7
XI. Проведение ИФА в автоматическом режиме.....	8
XII. Учет результатов.....	8
XIII. Интерпретация результатов.....	8
XIV. Срок годности. Условия хранения и транспортирования.....	9
XV. Объяснение символов.....	9

Набор реагентов выпускается в одном комплекте.

Набор рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного использования набора до одной лунки или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

I. ВВЕДЕНИЕ

Вирусы простого герпеса 1 (ВПГ-1) и 2 (ВПГ-2) типов – сложные ДНК-содержащие вирусы. Инфекция, вызываемая ВПГ-1,2 относится к числу наиболее частых заболеваний человека. В большинстве случаев ВПГ-2 является причиной генитального герпеса. Другие виды герпеса, такие как лабиальный герпес, вызываются в основном ВПГ-1. Тяжёлые формы герпеса возможны у пациентов с ослабленным иммунитетом. Выявление специфических для данного вируса антител IgM является полезным маркером в диагностике острой герпесвирусной инфекции.

II. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1,2-М» предназначен для выявления антител класса IgM к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа.

III. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1,2-М»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Имуносорбент - планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки), в лунках которого сорбированы рекомбинантные антигены, воспроизводящие основные иммунодоминантные регионы вирусов простого герпеса 1 и 2 типов.	1 планшет
Конъюгат, жидкий – поликлональные антитела к IgM человека, меченные пероксидазой хрена. Слегка опалесцирующая желтоватого цвета или бесцветная жидкость.	1 флакон 12,0 мл
K+ (контрольный положительный образец), жидкий - сыворотка крови человека, содержащая антитела класса IgM к ВПГ-1,2, не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая малиново-красного цвета жидкость. или Лунки с инкорпорированным контрольным положительным образцом.	1 флакон 1,0 мл или 16 лунок
K- (контрольный отрицательный образец), жидкий - сыворотка крови человека, не содержащая антитела класса IgM к ВПГ-1,2, не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зелёного цвета жидкость. или Лунки с инкорпорированным контрольным отрицательным образцом.	1 флакон 1,0 мл или 16 лунок
БР (блок-раствор) - слегка опалесцирующая фиолетово-синего цвета жидкость.	1 флакон 12,0 мл
ПР (концентрат x 25) – промывочный раствор. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 50,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор, готовый к применению, жидкий. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 12,0 мл
Стоп-реагент - раствор серной кислоты 0,2 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл

Набор комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами. Реагенты помещают в коробку картонную или пакет полиэтиленовый, куда вкладывают инструкцию по применению.

Дополнительно набор может быть укомплектован	Крышка к полистироловым 96-луночным планшетами или защитная пленка для ИФА планшетов	1 шт. 2 шт.
	Одноразовые наконечники	16 шт.
	Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт.
	Полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или пластиковая скрепка	1 шт.

IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Чувствительность и специфичность

Оценка тест-системы проводилась с использованием рабочей панели предприятия, состоящей из образцов, содержащих и не содержащих антитела IgM к ВПГ. Чувствительность тест-системы составила 100%, специфичность – 100%.

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24°C.
- Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов.
- Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24°C в течение 30 мин.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить тест в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на ферментативную активность конъюгатов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многократные ванночки для автоматических анализаторов необходимо сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной. Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной.
- Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).
- Ферментативная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстратов.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца.
- Промывка лунок - важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполнены, не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.
- Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Необходимо использовать воду дистиллированную.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию тепла или света во время инкубации и хранения.

VI. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для диагностики “in vitro”.
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении отрицательного контрольного образца, положительного контрольного образца, были протестированы и определены не реактивными в отношении поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антигена p24 ВИЧ-1 и антител к гепатиту С и ВИЧ-1,2.

- При работе с исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.

- Нельзя пипетировать ртом.

- При работе с набором реагентов с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, реагентами, промывочными растворами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами.

- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

- Необходимо избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы. При расплескивании немедленно дезинфицировать поверхность 3 % раствором хлорамина Б.

- Необходимо избегать контакта субстратного буфера, хромогена, стоп-реагента с кожей и слизистыми.

- После проведения ферментативной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в сточную трубу. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства (СМС) или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезинфекции – не менее 1 ч. Допустимо применение другого разрешенного к применению дез. средства. Твёрдые отходы также следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128°C под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128°C. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.



- **Xi** Некоторые реагенты содержат Проклин 300. Проклин 300 0,1 % - раздражающее вещество. Может вызвать сенсibilизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промойте область контакта большим количеством мыла и воды.

VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длинах волн 450 нм, 620-680 нм.

- Пипетки переменного объема (одно- и многоканальные).

- Наконечники одноразовые для пипеток переменного объема.

- Устройство для промывания планшетов (вошер).

- Градуированные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.

- Автоматический анализатор для иммуноферментного анализа открытого типа.

- Вода дистиллированная.

- Бумага фильтровальная лабораторная.

- Перчатки медицинские.

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови должен проводиться в соответствии с текущей практикой. В качестве исследуемых образцов могут быть использованы сыворотка (плазма) крови человека. Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы

термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Отобранные образцы хранить не более 3 сут. при температуре от 2 до 8 °С. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °С (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Исследование образцов с выраженным бактериальным ростом, гемолизом и гиперлипидемией не допускается, т.к. может дать неправильный результат. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты готовые к применению

- **Конъюгат.**
- **К+** - контрольный положительный образец, жидкий или инкорпорированный.
- **К-** - контрольный отрицательный образец, жидкий или инкорпорированный.
- **БР** - блок-раствор для разведения сывороток. Перед использованием реагент тщательно перемешать.
- **ТМБ-Субстратный раствор.**
- **Стоп-реагент.**

2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

Иммуносорбент. Каждый планшет, содержащий 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть пакет и вынуть планшет. Взять нужное количество лунок. Неиспользованные лунки без рамки поместить обратно в пакет. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8°С, при условии, что пакет герметично закрыт с помощью полиэтиленового пакета с замком Zip-Lock или с помощью скрепки. Не допускается удалять силикагель из пакета.

При комплектации набора стрипами с инкорпорированными К+ и К-. Лунки упакованы в фольгированные пакеты. Вскрыть пакет и вынуть нужное количество лунок. Неиспользованные лунки поместить обратно в пакет. После вскрытия пакетов лунки стабильны в течение 6 мес. при температуре от 2 до 8°С, при условии, что пакет герметично закрыт с помощью полиэтиленового пакета с замком Zip-Lock или с помощью скрепки. Не допускается удалять силикагель из пакета.

Рабочий промывочный раствор (ПР). Содержимое флакона с концентратом (x 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата (x 25) промывочного раствора развести соответствующим объемом воды дистиллированной (см. табл. 2 и 3). Полученный раствор тщательно перемешать. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут. при температуре от 18 до 24°С или 28 сут. при температуре от 2 до 8°С.

3. Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия флаконов, оставшиеся неиспользованными реагенты набора: иммуносорбент хранить на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С, конъюгат, К+, К-, БР хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, в течение 6 мес. при температуре от 2 до 8°С; ПР (концентрат x 25), ТМБ - Субстратный раствор, стоп-реагент хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8°С.

Х. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Примечание: Перед использованием все реагенты набора выдержать в течение 30 мин при температуре от 18 до 24°C.

Необходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых лунок или представлены в таблице 2:

Таблица 2

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых лунок при ручной постановке ИФА

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)	
	ПР (конц x 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)
1	4	96
2	8	192
3	12	288
4	16	384
5	20	480
6	24	576
7	28	672
8	32	768
9	36	864
10	40	960
11	44	1056
12	50	1200

Проведение ИФА

1. Вскрыть фольгированный пакет с иммуносорбентом, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество лунок. Пакет с неиспользованными лунками и силикагелем тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край пакета с иммуносорбентом свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета.

При комплектации набора жидкими контрольными образцами.

Контрольные образцы готовы к применению – не разводить!

При комплектации набора инкорпорированными контрольными образцами.

Вскрыть пакет с лунками с инкорпорированным К+, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета необходимое количество лунок. Пакет с неиспользованными лунками и силикагелем тщательно герметизировать. Аналогично вскрыть пакеты с лунками с инкорпорированным К-.

2. В зависимости от количества используемых лунок рекомендуется следующая схема:

8-16 лунок – 1 лунка К+ и 2 лунки К-.

Более 16 лунок – 2 лунки К+ и 3 лунки К-.

Например, при постановке ИФА на целом планшете с использованием жидких контрольных образцов, в лунки стрипа А-1 и В-1 пипеткой переменного объема внести по 100 мкл К+, в 3 лунки С-1, D-1 и Е-1 - по 100 мкл К-.

При комплектации набора инкорпорированными контролями внести в соответствующие лунки с контролями по 100 мкл БР.

В остальные лунки планшета внести по 90 мкл блок-раствора (БР). Затем добавить 10 мкл образцов исследуемых сывороток. Содержимое лунок перемешать осторожным пипетированием, при этом фиолетово-синий цвет должен измениться на голубой. Если изменение цвета не произошло, значит, сыворотка не внесена. **Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 5 мин.!**

Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 30 мин при комнатной температуре (18-24 °С).

3. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью вошера или многоканальной пипетки) и планшет промыть 4 раза рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 350 мкл в лунку), и удаляя промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала.

4. Во все лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата и покрытый крышкой или защитной пленкой планшет выдержать в течение 30 мин при комнатной температуре (18-24 °С), после чего планшет промыть 4 раза, как указано в п. 3.

5. Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ – Субстратного раствора и выдержать 20 мин при комнатной температуре (18-24 °С) в защищённом от света месте.

6. Реакцию остановить добавлением во все лунки по 100 мкл стоп-реагента и провести учет результатов.

XI. ПРОВЕДЕНИЕ ИФА В АВТОМАТИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ

При постановке тест-системы на автоматическом ИФА-анализаторе следуйте инструкции изложенной выше, п. X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

Протоколы для постановки и обсчета результатов тест-системы можно получить в ООО «НПО «Диагностические системы».

Таблица 3

Расход реагентов тест-системы на один планшет при постановке ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)	
	ПР (конц. x 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)
12 (целый планшет)	50	1200

XII. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов провести спектрофотометрически при двух длинах волн 450 нм и при референс-длине волны в диапазоне от 620 до 680 нм с настройкой прибора по «воздуху». Допустим учёт результатов при одной длине волны - 450 нм.

Реакцию учитывать, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунке с К- - не более 0,2, а среднее значение ОП растворов в лунках с К+ - не менее 0,5.

ОП крит. рассчитывать по формуле:

$$\text{ОП крит.} = \text{ср. знач. ОП К-} + \text{А,}$$

где: А - коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов постановки ИФА на предприятии-изготовителе.

XIII. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат анализа сывороток считать положительным, если значение ОП исследуемого образца выше ОП крит.

Результат анализа сывороток считать отрицательным, если значение ОП исследуемого образца ниже ОП крит.

1. Для определения факта недавнего инфицирования или имеющего место в данный момент активного инфекционного процесса рекомендуется:

а.) По возможности изолировать и идентифицировать вирус.

б.) Исследовать сыворотку пациента на анти-ВПГ-1,2-IgG и IgM. Положительный результат на IgM или значительное увеличение титра антител класса G в парных образцах сыворотки могут указывать на острую стадию инфекции.

в.) Исследовать сыворотку пациента на авидность анти-ВПГ-1,2 класса G. Выявление низкоавидных IgG к ВПГ-1,2 свидетельствует о первичной герпесвирусной инфекции.

2. Негативный результат на IgM к ВПГ-1,2 не является доказательством отсутствия активной инфекции ВПГ-1,2.

3. Образцы, показывающие сомнительный результат, необходимо повторно тестировать: если после повторного тестирования результат остается сомнительным, их следует тестировать, используя альтернативный метод исследования.

ВНИМАНИЕ: Серологический анализ может определить лишь факт инфицирования ВПГ в прошлом и не может быть единственным критерием для диагностики активной инфекции. Для постановки диагноза необходимо учитывать клиническую картину и данные лабораторных исследований.

XIV. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности - 13 месяцев. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Хранение - в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8°C.

Транспортирование - при температуре от 2 до 8°C. Допустимо транспортирование от 9 до 20°C и не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.nnov.ru; www.npods.ru.

XV. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
	Номер партии (серии)
	Каталожный номер
	Количество определений
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество


Директор по производству
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»



В.К. Пименов

СОГЛАСОВАНО
Зав.кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГБОУ ДПО РМАПО
Минздравсоцразвития России
д.м.н, профессор

9



В.В. Долгов

