REF **В-653** Σ **96**

REF **В-650** Σ **192**

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HBc» Тест-система иммуноферментная для выявления антител к core-антигену вируса гепатита В

Состав набора:

Иммуносорбент – core-антиген вируса гепатита В (HBcAg), рекомбинантный белок, гомологичный core-антигену вируса гепатита В, сорбированный на стрипах полистиролового 96-луночного планшета разборного;

Конъюгат (концентрат х 21), жидкий – глобулиновая фракция сыворотки крови человека, содержащая антитела к core-антигену вируса гепатита В (анти-HBc), конъюгированные с пероксидазой хрена;

К+ (контрольный положительный образец), жидкий – сыворотка крови человека, содержащая антитела к core-антигену вируса гепатита В (HBcAg), не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и к вирусу гепатита С, инактивированная;

К- (контрольный отрицательный образец), жидкий – сыворотка крови человека, не содержащая HBsAg, антитела к HBcAg, к ВИЧ-1,2, к вирусу гепатита С, инактивированная;

ПР (концентрат х 25) – промывочный раствор для промывания иммуносорбента и разведения концентрата конъюгата;

СБ - субстратный буферный раствор;

ТМБ - хромоген - 3,3',5,5'-тетраметилбензидин, жидкий;

Стоп-реагент – 0,75 М водный раствор серной кислоты.

Набор выпускается в двух комплектах:

комплект № 1 рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

комплект № 2 рассчитан на проведение 192 (два разборных планшета) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

Описание реагентов набора:

Иммуносорбент – разборный 96-луночный полистироловый планшет с прозрачными бесцветными лунками;

Конъюгат (концентрат х 21) - прозрачная или слегка опалесцирующая голубого цвета жидкость;

К+ (контрольный положительный образец) - прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость;

К- (контрольный отрицательный образец) - прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость;

ПР (концентрат х 25) промывочный раствор - прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании;

СБ - прозрачная бесцветная жидкость;

ТМБ - прозрачная бесцветная жидкость;

Стоп-реагент - прозрачная бесцветная жидкость.

Назначение

Набор предназначен для выявления антител к core-антигену вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови человека.

Меры безопасности

Для изготовления контрольных образцов набора использованы термоинактивированные сыворотки. При работе с набором в лаборатории с исследуемыми образцами сывороток (плазмы) крови человека обращаться, как с потенциально инфекционным материалом: работать в резиновых перчатках, в спецодежде, не пипетировать ртом. Твёрдые отходы (использованные планшеты, наконечники к пипеткам, флаконы из-под реагентов, лабораторную посуду и т.д.) обеззараживать погружением в 6% раствор перекиси водорода с 0,5% синтетического моющего средства (СМС) или в 3% раствор хлорамина Б, или иного разрешенного к применению дезинфицирующего средства. Длительность дезактивации - не менее 1 ч. Твёрдые отходы можно обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГс/см^2 (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывные воды) обезвреживать добавлением сухого хлорамина Б из расчёта 30 г/л (длительность дезактивации – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГс/см^2 (0,15 МПа) и температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Способ применения:

Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов, а также использовать реагенты по истечении срока их годности!

Перед использованием все реагенты набора выдержать 30 мин при температуре от 18 до 24 °С. Внимание! Иммуносорбент необходимо выдержать в закрытом пакете во избежание конденсации влаги в лунках планшета.

Все растворы необходимо отбирать новыми одноразовыми наконечниками, не допускать касания жидкости в наконечнике краем дозатора!

Для отбора проб использовать калиброванные пипетки переменного объема (одно- и многоканальные) с погрешностью измерения не более 5%.

Посуду для работы с субстратной смесью (ванночки, флаконы и т.д.) в случае повторного использования необходимо сразу после работы промыть 70% раствором этилового спирта, а затем водой дистиллированной.

1. Перечень оборудования, материалов и реактивов, необходимых для постановки ИФА.

1. Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длинах волн 450 нм и 620-680 нм.
2. Пипетки переменного объема (одно- и многоканальные).
3. Наконечники одноразовые для пипеток переменного объема.
4. Термостат.
5. Устройство для промывания планшетов (вошер).
6. Автоматический анализатор для иммуноферментного анализа открытого типа.
7. Вода дистиллированная.
8. Бумага фильтровальная лабораторная.
9. Перчатки медицинские.

2. Приготовление рабочих растворов.

Объёмы реагентов для проведения анализа на необходимом количестве стрипов приведены в таблицах № 1 и 2**.**

Таблица 1

Расход реагентов набора при постановке ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 21) (мл)	Рабочий ПР (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
12	40,0	960,0	0,400	8,0	0,65	13,0

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2

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

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 21) (мл)	Рабочий ПР (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
1	3,0	72,0	0,025	0,5	0,05	1,0
2	6,0	144,0	0,050	1,0	0,10	2,0
3	9,0	216,0	0,075	1,5	0,15	3,0
4	12,0	288,0	0,100	2,0	0,20	4,0
5	15,0	360,0	0,125	2,5	0,25	5,0
6	18,0	432,0	0,150	3,0	0,30	6,0
7	21,0	504,0	0,175	3,5	0,35	7,0
8	24,0	576,0	0,200	4,0	0,40	8,0
9	27,0	648,0	0,225	4,5	0,45	9,0
10	30,0	720,0	0,250	5,0	0,50	10,0
11	33,0	792,0	0,275	5,5	0,55	11,0
12	40,0	960,0	0,400	8,0	0,65	13,0

ПР - рабочий промывочный раствор. Содержимое флакона с концентратом промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимое количество концентрата промывочного раствора отобрать в отдельную ёмкость и добавить соответствующее количество воды дистиллированной (согласно табл. № 1 и 2). Полученный раствор тщательно перемешать.

Хранение: рабочий промывочный раствор хранить не более 3-х сут при температуре от 2 до 8 °С.

К- - контрольный отрицательный образец, готов к применению.

К+ - контрольный положительный образец, готов к применению.

Конъюгат, рабочий раствор, готовить перед использованием. Необходимое количество рабочего ПР перенести в чистую емкость, добавить соответствующее количество тщательно перемешанного концентрата конъюгата (согласно табл. № 1 и 2) и осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!).

Хранение: рабочий раствор конъюгата стабилен не более 12 ч в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

ТМБ - хромоген - 3,3',5,5'-тетраметилбензидин для приготовления субстратной смеси, готов к применению. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать.

СБ - субстратный буферный раствор для приготовления субстратной смеси, готов к применению. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать.

СС - субстратная смесь, готовить перед использованием. Необходимый объем ТМБ развести соответствующим объемом СБ (согласно табл. № 1 и 2), тщательно перемешать до полного растворения.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Хранение: допустимо хранение СС не более 10 ч в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С в химически чистых флаконах или специальной емкости, предназначенной для постановки ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

Субстратная смесь должна быть бесцветной!

Стоп – реагент - готов к применению.

Хранение: после вскрытия флаконов, оставшиеся неиспользованными реагенты набора (ПР (концентрат х 25), коньюгат (концентрат х 21), К-, К+, СБ, ТМБ, стоп-реагент) хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

3. Подготовка исследуемых образцов.

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Каждый образец сыворотки следует отбирать новым наконечником! Отобранные образцы хранить не более 3 сут при температуре от 2 °С 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.

4. Проведение ИФА при ручной постановке.

4.1. Вскрыть фольгированный пакет с иммуносорбентом, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество стрипов. Пакет с неиспользованными стрипами и силикагелем тщательно герметизировать. После первого вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 1 мес. при температуре от 2 до 8 °С.

4.2. В 1 лунку иммуносорбента пипеткой переменного объема внести по 50 мкл К+, в 3 лунки - по 50 мкл К-. В остальные лунки внести по 50 мкл исследуемых образцов сывороток. Во все лунки стрипов внести по 50 мкл рабочего раствора конъюгата. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краю планшета. Планшет покрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в термостате в течение 1 ч при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

4.3. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью вошера или многоканальной пипетки), планшет промыть 4 раза рабочим ПР, заливая его до краев лунок (от 380 до 400 мкл в лунку), выдерживая 40 с и удаляя промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4.4. Во все лунки стрипов внести по 100 мкл СС и выдержать планшет 30 мин в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

4.5. Реакцию остановить добавлением в лунки по 50 мкл стоп-реагента, содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краю планшета и провести учет результатов.

5. 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 учитывают, если значение оптической плотности (ОП) в лунке с К+ - не более 0,2, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- - не менее 1,4.

Положительным считают образец со значением ОП, равным или менее ОП критического (ОП крит.).

Отрицательным считают образец со значением ОП более ОП крит.

ОП крит. рассчитывают по формуле:

ОП крит. = (ср. знач. ОП К– х А) – В,

где А, В – коэффициенты, определяемые методом статистической обработки результатов постановки ИФА на предприятии-изготовителе, величину которого указывают для каждой серии в инструкции по применению, вкладываемой в коробку с набором и в паспорте на серию данного препарата*.

* «Для набора серии № 032XXX коэффициент А=0,5; В=0,500».

6. Проведение ИФА в автоматическом режиме на автоматическом анализаторе типа «TECAN Freedom EVOlyzer» производства фирмы «TECAN», Швейцария (возможна постановка на других моделях ИФА-анализаторов открытого типа).

1. Задают программу проведения ИФА и включают анализатор.
2. Приготовленный рабочий промывочный раствор заливают в предназначенную для него емкость (входящую в комплект к ИФА-анализатору), остальные рабочие растворы и реагенты помещают в специальные контейнеры или емкости. Флаконы с контрольными образцами К+ и К-, и флаконы или пробирки с образцами исследуемых сывороток в объеме не менее 300 мкл устанавливают в соответствующие штативы анализатора. В анализатор помещают необходимое количество планшетов. Далее постановку проводить в соответствии с инструкцией по применению ИФА-анализатора и программой проведения ИФА.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. По окончании анализа прибор выдает протокол по результатам исследования, в котором дается характеристика каждого исследуемого образца и контрольных образцов К+ и К-.

4. Реакцию учитывают, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с К+ не более 0,2, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- - не менее 1,4. Далее учет результатов проводить аналогично п.5.

Форма выпуска

	Комплект 1	Комплект 2
Иммуносорбент	1 шт.	2 шт.
Конъюгат (концентрат х 21)	0,5 мл -1 фл.	1,0 мл -1 фл.
К+	2,0 мл - 1 фл.	2,0 мл - 1 фл.
К-	2,5 мл -1 фл.	2,5 мл -1 фл.
ПР (концентрат х 25)	50,0 мл - 1 фл.	80,0 мл -1 фл.
ТМБ	1,5 мл -1 фл.	1,5 мл -1 фл.
СБ	15,0 мл -1 фл.	15,0 мл - 2 фл.
Стоп-реагент	25,0 мл -1 фл.	25,0 мл 1 фл.

Реагенты помещают в коробку картонную или пакет полиэтиленовый, куда вкладывают инструкцию по применению.

Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

– крышка к полистироловым 96-луночным планшетам или защитная пленка для ИФА планшетов – 1 шт или 2 шт.

– одноразовые наконечники – 16 шт или 32 шт.

– пластиковая ванночка для жидких реагентов - 2 шт или 4 шт.

– пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или пакет полиэтиленовый с замком zip-lock - 1 шт.

Срок годности. Условия транспортирования и хранения.

Срок годности набора - 12 месяцев

По истечении срока годности набор использованию не подлежит.

Транспортирование наборов должно производиться при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 10 сут. Замораживание не допускается.

Набор должен храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Условие отпуска - Для лечебно-профилактических и санитарно–профилактических учреждений.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12, 8-800-555-0300. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования».

 – Изготовитель, символ 5.1.1;

 – Дата изготовления (YYYY-MM), символ 5.1.3;

 – Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD), символ 5.1.4;



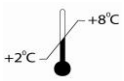
– Код партии (номер серии), символ 5.1.5;



– Номер по каталогу, символ 5.1.6;

 – Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;

 – Беречь от влаги, символ 5.3.4;



– Температурный диапазон, символ 5.3.7;

 – Обратитесь к инструкции по применению, символ 5.4.3;

 – Внимание, символ 5.4.4;



– Медицинское изделие для диагностики *in vitro*, символ 5.5.1;

 – Содержимого достаточно для проведения *n*-количества тестов (количество определений), символ 5.5.5.