REF **В-851** Σ **96**

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HBe» Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к е-антигену вируса гепатита В (HBeAg)

Состав набора:

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

Конъюгат (концентрат х 11), жидкий – моноклональные антитела мыши против иммуноглобулинов G человека, меченные пероксидазой;

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

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

РРК - раствор для разведения конъюгата;

БР - блок-раствор для рабочего разведения сывороток;

ПР (концентрат х 25) – промывочный раствор;

СБ - субстратный буферный раствор;

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

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

Набор 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

Описание реагентов набора:

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

Конъюгат (концентрат х 11) - прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета жидкость;

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

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

РРК - прозрачная или слегка опалесцирующая голубого цвета жидкость, допустимо образование аморфного осадка, при встряхивании распадающегося и приводящего к помутнению раствора;

БР – прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость, допустимо образование аморфного осадка, при встряхивании распадающегося и приводящего к помутнению раствора;

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

Тест-система предназначена для выявления антител класса IgG к е-антигену вируса гепатита В (HBeAg) в сыворотке (плазме) крови человека иммуноферментным методом. Может быть использована при оценке иммунного статуса населения, прогноза заболевания и контроле за проводимой терапией гепатита В.

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 дез. 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 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. Термостат.
3. Устройство для промывания планшетов (вошер).
4. Пипетки переменного объема (одно- и многоканальные).
5. Наконечники одноразовые для пипеток переменного объема.
6. Автоматический анализатор для иммуноферментного анализа открытого типа.
7. Вода дистиллированная.
8. Бумага фильтровальная лабораторная.
9. Перчатки медицинские.

2. Приготовление рабочих растворов.

Объёмы реагентов при проведении анализа на необходимом количестве стрипов приведены в таблицах № 1 и 2.

Таблица 1

Расход реагентов набора на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 11) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
12	60,0	1440,0	1,2	12,0	12,0	1,2

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. х25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 11) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
1	5,0	120,0	0,1	1,0	1,0	0,1
2	10,0	240,0	0,2	2,0	2,0	0,2
3	15,0	360,0	0,3	3,0	3,0	0,3
4	20,0	480,0	0,4	4,0	4,0	0,4
5	25,0	600,0	0,5	5,0	5,0	0,5
6	30,0	720,0	0,6	6,0	6,0	0,6
7	35,0	840,0	0,7	7,0	7,0	0,7
8	40,0	960,0	0,8	8,0	8,0	0,8
9	45,0	1080,0	0,9	9,0	9,0	0,9
10	50,0	1200,0	1,0	10,0	10,0	1,0
11	55,0	1320,0	1,1	11,0	11,0	1,1
12	60,0	1440,0	1,2	12,0	12,0	1,2

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.

БР – блок-раствор для рабочего разведения сывороток, готов к применению. Перед использованием БР тщательно перемешать.

РРК - раствор для разведения конъюгата, готов к применению. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать.

Конъюгат, рабочий раствор, готовить перед использованием. Необходимое количество РРК 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.

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

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

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 компонентов: после вскрытия флаконов оставшиеся неиспользованными компоненты тест-системы (ПР (концентрат х 25), К+, К-, БР, РРК, конъюгат (концентрат х 11), СБ, ТМБ, Стоп-реагент) хранить во флаконах, плотно укупоренных пробками (закрытыми винтовыми крышками), на протяжении срока годности тест-системы 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 суток 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.

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. Перед использованием иммуносорбент промыть 2 раза рабочим ПР с помощью вошера (или многоканальной пипетки), осторожно заливая его до краев лунок (от 380 до 400 мкл в лунку), не допуская при этом переливания промывочного раствора через края лунок, выдерживая 40 сек и осторожно удаляя промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала.

4.3. В 1 лунку иммуносорбента вариодозатором пипеточным внести 100 мкл К+, в 2 лунки по 100 мкл К-. В остальные лунки внести по 90 мкл БР и по 10 мкл образцов исследуемых сывороток (сыворотки в лунках разведены в 10 раз). Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краю планшета. Планшет покрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в термостате в течение 30 мин при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

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

4.4. Содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала и планшет промыть 4 раза ПР, как указано в п. 4.2.

4.5. Во все лунки стрипов внести по 100 мкл конъюгата в рабочем разведении и покрытый крышкой или защитной пленкой планшет выдержать в термостате в течение 30 мин при температуре (37,0 ±0,5) °С.

4.6. Содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала и планшет промыть 6 раз рабочим раствором ПР как указано в п. 4.2.

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

4.8. Реакцию остановить добавлением в лунки по 50 мкл стоп-реагента, содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краю планшета и через 2-3 мин провести учет результатов.

5. Учёт 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 значение оптической плотности (ОП) в лунке с К+ - не менее 0,8, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- - не более 0,2. Положительным следует считать образец со значением ОП, равным или превышающим ОП критическое (ОП крит.).

Отрицательным следует считать образец со значением ОП менее ОП крит. ОП крит. рассчитать по формуле:

ОП крит. = ср. знач. ОП К - + А,

где А – коэффициент, определяемый 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 № 037XXX величина коэффициента А=0,200».

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, остальные рабочие растворы и реагенты помещают в специальные контейнеры или емкости, контрольные образцы К+ и К- - во флаконах, образцы исследуемых сывороток - во флаконах или пробирках в объеме не менее 300 мкл устанавливают в соответствующие штативы анализатора; помещают в анализатор необходимое количество иммуносорбентов.

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 значение оптической плотности (ОП) в лунке с К+ - не менее 0,8, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- - не более 0,2. Далее учет результатов проводить аналогично п. 5.

Форма выпуска

Иммуносорбент	1 шт.
Конъюгат (концентрат х 11)	1,5 мл -1 фл.
К+	2,0 мл -1 фл.
К-	3,0 мл -1 фл.
РРК	15,0 мл -1 фл.
БР	12,0 мл -1 фл.
ПР (концентрат х 25)	80,0 мл-1 фл.
СБ	15,0 мл -1 фл.
ТМБ	1,5 мл - 1 фл.
Стоп-реагент	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.

– одноразовые наконечники - 16 шт.

– пластиковая ванночка для жидких реагентов – 2 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 мес.

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 диагностики «in vitro». Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 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;



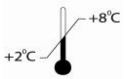
– Код партии (номер серии), символ 5.1.5;



– 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.