REF **Е-152** Σ **96**

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HEV-М»
Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgM к вирусу гепатита Е, набор диагностический

Состав набора:

Иммуносорбент – смесь рекомбинантных антигенов вируса гепатита Е, сорбированная на стрипах планшета полистиролового 96-луночного разборного;

Конъюгат (концентрат х 21) – моноклональные антитела мыши против иммуноглобулинов М человека, меченые пероксидазой хрена;

К+ – контрольный положительный образец, жидкий – сыворотка крови человека в разведении 1:10, инактивированная, содержащая антитела класса М к вирусу гепатита Е, не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С;

К- – контрольный отрицательный образец, жидкий – сыворотка крови человека в разведении 1:10, инактивированная, не содержащая антитела к вирусу гепатита Е, HBsAg, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С;

БР – блок-раствор для разведения образцов сывороток;

РРК – раствор для разведения конъюгата;

ПР (концентрат х 25) – промывочный раствор;

СБ – субстратный буферный раствор;

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

Стоп-реагент – раствор серной кислоты 0,75 моль/л.

Набор рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора.

Описание реагентов набора:

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

Конъюгат (концентрат х 21) – прозрачная или слегка опалесцирующая светло-жёлтого цвета жидкость;

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

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

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

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

РРК – при температуре от 2 до 8 °С прозрачная желтого цвета жидкость, при температуре от 18 до 24 °С опалесцирующая жидкость желтого цвета;

ПР (концентрат х 25) – 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 класса М к вирусу гепатита Е в сыворотке (плазме) крови человека иммуноферментным методом.

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 дозаторам, флаконы из-под реагентов, лабораторная посуда и т. д.) обеззараживать погружением в 6% раствор перекиси водорода с 0,5% синтетического моющего средства (СМС) или в 3% раствор хлорамина Б. 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 при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.

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!

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

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. Фотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения с настройкой «по воздуху».
2. Пипетки переменного объема (одно- и многоканальные).
3. Наконечники одноразовые для пипеток переменного объема.
4. Термостат.
5. Устройство для промывания планшетов (вошер).
6. Вода дистиллированная.
7. Бумага фильтровальная лабораторная.
8. Перчатки медицинские.

2. Приготовление рабочих растворов.

Объёмы реагентов для проведения анализа на необходимом количестве стрипов или на целом планшете приведены в таблице № 1.

Таблица 1

Расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов при постановке ИФА

Кол-во используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 21) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
1	4,0	96,0	0,05	1,0	1,0	0,05
2	8,0	192,0	0,10	2,0	2,0	0,10
3	12,0	288,0	0,15	3,0	3,0	0,15
4	16,0	384,0	0,20	4,0	4,0	0,20
5	20,0	480,0	0,25	5,0	5,0	0,25
6	24,0	576,0	0,30	6,0	6,0	0,30
7	28,0	672,0	0,35	7,0	7,0	0,35
8	32,0	768,0	0,40	8,0	8,0	0,40
9	36,0	864,0	0,45	9,0	9,0	0,45
10	40,0	960,0	0,50	10,0	10,0	0,50
11	44,0	1056,0	0,55	11,0	11,0	0,55
12	50,0	1200,0	0,65	13,0	13,0	0,65

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

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). Полученный раствор тщательно перемешать.

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

К+ – контрольный положительный образец, готов к применению.

К- – контрольный отрицательный образец, готов к применению.

БР – раствор для разведения образцов, готов к применению. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать и отобрать необходимое количество в чистую емкость.

РРК – раствор для разведения конъюгата, готов к применению. Перед употреблением содержимое флакона тщательно перемешать.

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

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

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), 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.

Субстратная смесь должна быть бесцветной!

Стоп – реагент – готов к применению.

Хранение реагентов. После вскрытия флаконов оставшиеся неиспользованными реагенты набора – ПР (концентрат х 25), К-, К+, БР, РРК, СБ, ТМБ, Стоп-реагент – хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

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

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 при температуре от 2 до 8 °С не более 72-х ч. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °С (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Образцы с выраженным бактериальным ростом, гемолизом и гиперлипидемией могут дать неправильный результат. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо «осветлять» центрифугированием.

4. Проведение ИФА.

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, осторожно заливая его с помощью вошера или многоканальной пипетки до краёв лунок (не менее 380 мкл в лунку), выдерживая 40 сек и удаляя промывочный раствор в ёмкость с дезинфицирующим раствором.

4.3. При внесении контрольных образцов в зависимости от количества используемых стрипов рекомендуется следующая схема:

1 стрип – 1 лунка К+ и 2 лунки К-

2 стрипа – 2 лунки К+ и 2 лунки К-

3 стрипа и более – 2 лунки К+ и 3 лунки К-.

Например, при постановке ИФА на двух стрипах, в лунки стрипа А-1 и В-1 пипеткой переменного объема внести по 100 мкл К+, в 3 лунки С-1, D-1, Е-1 – по 100 мкл К-. В остальные лунки иммуносорбента внести по 90 мкл блок-раствора и по 10 мкл образцов исследуемых сывороток (конечное разведение исследуемых сывороток 1:10). Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краю планшета или осторожным пипетированием, при этом фиолетово-синий цвет содержимого лунок должен измениться на голубовато-зеленый. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в термостате 30 мин при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

4.4. Содержимое лунок аккуратно удалить, с помощью промывочного устройства в ёмкость с дезинфицирующим раствором и планшет промыть 4 раза рабочим ПР, как указано в п. 4.2.

4.5. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата и закрытый крышкой или защитной пленкой планшет выдержать в термостате 30 мин при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

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

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

4.7. Во все лунки стрипов внести по 100 мкл СС и выдержать планшет 20 мин в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

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

5. Учет результатов.

Учет результатов следует проводить спектрофотометрически при длине волны 450 нм и референс-светофильтре 620-680 нм с настройкой прибора «по воздуху». Допустим учет результатов при одной длине волны 450 нм.

Реакцию учитывать, если значения оптической плотности (ОП) в каждой лунке с К+ – не менее 0,6, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- – не более 0,2.

Положительными считать образцы со значениями ОП равными или превышающими ОП крит. Отрицательными считать образцы со значениями ОП менее ОП крит.

ОП крит. рассчитывают по формуле:

ОП крит. = ОП К- ср. + А (А=0,200),

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.

Форма выпуска

Иммуносорбент	1 шт.
Конъюгат (концентрат х 21)	0,75 мл - 1 фл.
К+, инактивированный	1,5 мл - 1 фл.
К-, инактивированный	2,5 мл - 1 фл.
БР	12,5 мл - 1 фл.
РРК	13,5 мл - 1 фл.
ПР (концентрат х 25)	50,0 мл - 1 фл.
СБ	15,0 мл - 1 фл.
ТМБ	1,5 мл - 1 фл.
Стоп-реагент	25,0 мл - 1 фл.

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

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;
- одноразовые наконечники;
- пластиковая ванночка для жидких реагентов;
- пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или пакет полиэтиленовый с замком Zip-Lock.

Срок годности. Условия транспортирования и хранения

Срок годности набора – 12 месяцев.

По истечении срока годности препарат использованию не подлежит.

Транспортирование набора должно производиться при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование от 9 до 20 °С не более 10 суток. 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, 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;



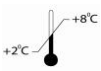
– Код партии (номер серии), символ 5.1.5;



– 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.

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