

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Диапроцесс»

М.В. Лосев

«*Диапроцесс*» 201 *Е* г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного выявления поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В

«HBsAg»

по ТУ 9398-002-49073111-2016

НАЗНАЧЕНИЕ

Для диагностики «in vitro».

Набор реагентов для иммуноферментного выявления поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В «HBsAg» по ТУ 9398-002-49073111-2016 (далее по тексту – набор реагентов), предназначенный для качественного выявления поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В в сыворотке и плазме крови человека (далее по тексту – анализируемые образцы) методом двухстадийного твердофазного иммуноферментного «сэндвич»-анализа (далее по тексту – ИФА).

Рекомендуется использовать для скрининга (первичной лабораторной диагностики) гепатита В.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Гепатит В — антропонозное вирусное заболевание, вызываемое возбудителем с выраженными гепатотропными свойствами - вирус гепатита В из семейства *Hepadnaviridae*. Инкубационный период гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. Инфекционный процесс начинается с момента попадания вируса в кровь. После попадания вирусов в печень через кровь идёт скрытая фаза размножения и накопления вирусных частиц. При достижении определенной концентрации вируса в печени развивается острый гепатит В. Иногда острый гепатит проходит для человека практически незаметно, и обнаруживается случайно, иногда протекает в легкой безжелтушной форме — проявляется только недомоганием и снижением работоспособности.

Симптоматика вирусного гепатита В обусловлена интоксикацией вследствие снижения детоксикационной функции печени и холестазом — нарушением оттока желчи. Поскольку к любым токсинам чувствительна прежде всего нервная ткань, в частности нейроны головного мозга, прежде всего наблюдается церебротоксический эффект, что приводит к повышенной утомляемости, нарушению сна (при лёгких формах острого и хронического гепатита), и спутанности сознания вплоть до печёночной комы (при массивном некрозе гепатоцитов или последних стадиях цирроза печени).

Наиболее широко в диагностике гепатита В используется определение поверхностного антигена HBsAg с помощью проведения иммуноферментного анализа. Данный антиген **выявляется** как при остром, так и при хроническом заболевании. При остром гепатите В поверхностный антиген вируса обнаруживается через 3-5 недель от момента инфицирования, то есть задолго до появления клинических признаков болезни и в этих случаях является единственным серологическим маркером. HBsAg постоянно выявляется в преджелтушном и желтушном периодах болезни. Персистирование HBsAg в течение 6 месяцев и более указывает на затяжное или хроническое течение болезни, и позволяет предположить хроническое носительство вируса.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Диапроцесс»

М.В. Лосев
«*Лосев*» 201 6 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного выявления поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В

«HBsAg»

по ТУ 9398-002-49073111-2016

НАЗНАЧЕНИЕ

Для диагностики «in vitro».

Набор реагентов для иммуноферментного выявления поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В «HBsAg» по ТУ 9398-002-49073111-2016 (далее по тексту – набор реагентов), предназначенный для качественного выявления поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В в сыворотке и плазме крови человека (далее по тексту – анализируемые образцы) методом двухстадийного твердофазного иммуноферментного «сэндвич»-анализа (далее по тексту – ИФА).

Рекомендуется использовать для скрининга (первичной лабораторной диагностики) гепатита В.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Гепатит В — антропонозное вирусное заболевание, вызываемое возбудителем с выраженными гепатотропными свойствами - вирус гепатита В из семейства *Hepadnaviridae*. Инкубационный период гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. Инфекционный процесс начинается с момента попадания вируса в кровь. После попадания вирусов в печень через кровь идёт скрытая фаза размножения и накопления вирусных частиц. При достижении определенной концентрации вируса в печени развивается острый гепатит В. Иногда острый гепатит проходит для человека практически незаметно, и обнаруживается случайно, иногда протекает в легкой безжелтушной форме — проявляется только недомоганием и снижением работоспособности.

Симптоматика вирусного гепатита В обусловлена интоксикацией вследствие снижения детоксикационной функции печени и холестазом — нарушением оттока желчи. Поскольку к любым токсинам чувствительна прежде всего нервная ткань, в частности нейроны головного мозга, прежде всего наблюдается церебротоксический эффект, что приводит к повышенной утомляемости, нарушению сна (при лёгких формах острого и хронического гепатита), и спутанности сознания вплоть до печёночной комы (при массивном некрозе гепатоцитов или последних стадиях цирроза печени).

Наиболее широко в диагностике гепатита В используется определение поверхностного антигена HBsAg с помощью проведения иммуноферментного анализа. Данный антиген выявляется как при остром, так и при хроническом заболевании. При остром гепатите В поверхностный антиген вируса обнаруживается через 3-5 недель от момента инфицирования, то есть задолго до появления клинических признаков болезни и в этих случаях является единственным серологическим маркером. HBsAg постоянно выявляется в преджелтушном и желтушном периодах болезни. Персистенция HBsAg в течение 6 месяцев и более указывает на затяжное или хроническое течение болезни, и позволяет предположить хроническое носительство вируса.

ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Только для профессионального использования.

Сотрудники клинично-диагностических лабораторий медицинских учреждений и лабораторий службы крови.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

1 Состав набора реагентов

Набор реагентов выпускают в виде комплекта 1 и комплекта 2.

Все комплекты предназначены для постановки анализа вручную и на анализаторе иммуноферментном «Элиза» (далее по тексту – анализатор «Элиза»).

Комплект 1 и комплект 2 отличаются по количеству компонентов, входящих в набор реагентов. Комплект 1 и комплект 2 предназначены для постановки анализа на 96 и 192 определения соответственно, включая контрольные образцы.

Каждый комплект включает в себя «Иммуносорбент», картридж с растворами реагентов и контролей, герметизированный пленкой, концентрат промывочного раствора и инструкцию по применению. Дополнительно в набор вкладывают клейкую пленку для картриджей.

Состав комплектов представлен в таблице 1.

Т а б л и ц а 1 – Состав комплектов

Наименование	комплект 1	комплект 2
	Кат. №	Кат. №
<i>Компоненты</i>		
Иммуносорбент – моноклональные антитела к поверхностному антигену HBsAg, сорбированные в лунках планшета	1 шт.	2 шт.
«К1» – положительный контрольный образец, инактивированный – прозрачная синего цвета жидкость, допускается выпадение осадка. Консервант: проклин-300 – 0,27%	2,5 мл	5 мл
«К2» – отрицательный контрольный образец, инактивированный – прозрачная желтого цвета жидкость, допускается выпадение осадка. Консервант: проклин 300 – 0,35 %	2,5 мл	5 мл
«Р1» – раствор конъюгата №1 – прозрачная светло-желтого цвета жидкость, допускается выпадение осадка. Консервант: проклин-300 – 0,1%	3,5 мл	6 мл
«Р2» – раствор конъюгата №2 – прозрачная светло-желтого цвета жидкость, допускается выпадение осадка	13 мл	25 мл
«Р3» – раствор хромогена – прозрачная бесцветная жидкость, допускается наличие голубого оттенка, допускается выпадение осадка	13 мл	25 мл
«Р4» – 0,9 моль/л раствор кислоты серной – прозрачная бесцветная жидкость	7 мл	13 мл
«Концентрат промывочного раствора» - 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином – прозрачная бесцветная жидкость, допускается выпадение осадка	1 фл. (28 мл)	2 фл. (по 28 мл)
<i>Принадлежности</i>		
Клейкая пленка для картриджей	4 шт.	4 шт.
<i>Эксплуатационная документация</i>		
Инструкция по применению набора реагентов	1 шт.	1 шт.

2 Число анализируемых образцов биологического материала

Комплект 1 предназначен для 96 определений, комплект 2 предназначен для 192 определений, включая контрольные образцы.

3 Принцип метода

На первой стадии ИФА анализируемый образец и «Р1» инкубируют с иммобилизованными на поверхности лунок планшета моноклональными антителами к поверхностному антигену HBsAg. При наличии в анализируемом образце поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В происходит образование комплекса «антитело-антиген-конъюгат №1».

На второй стадии анализа, после инкубации и удаления несвязанных компонентов анализируемого образца и «Р1» в лунки добавляют «Р2».

После инкубации и удаления несвязанного «Р2», связанный конъюгат № 2 выявляют, добавляя в лунки «Р3».

Реакцию останавливают «Р4».

Интенсивность окрашивания раствора в лунках «Иммуносорбента» измеряют с использованием спектрофотометра вертикального сканирования.

Общее содержание поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В в сыворотке и плазме крови прямо пропорционально интенсивности окраски раствора.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

1 Чувствительность

Чувствительность набора реагентов определяли с использованием следующих материалов:

- положительных сывороток стандартной панели «Стандарт (+/-) HBsAg», аттестованной Отделом биологического и технологического контроля предприятия (далее по тексту - ОБТК) ООО «Диапроцесс». Чувствительность набора реагентов с образцами панели без ложноотрицательных результатов составила 100 %;

- стандартного образца массовой концентрации HBsAg вируса гепатита В в сыворотке, плазме крови человека, ООО «Медико-биологический Союз», г. Новосибирск (ГСО 10280-2013). Чувствительность набора реагентов без ложноотрицательных результатов должна быть не менее 100 %.

1.1 Диагностическая чувствительность

Диагностическую чувствительность набора реагентов определяли в ходе клинических исследований с использованием следующих материалов:

- массива сывороток крови в количестве 970 образцов, содержащих HBsAg вируса гепатита В. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %;

- массива плазмы крови человека с гепарином в количестве 970 образцов, содержащих HBsAg вируса гепатита В. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %;

- массива плазмы крови человека с ЭДТА в количестве 970 образцов, содержащих HBsAg вируса гепатита В. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %;

- массива плазмы крови человека с цитратом натрия в количестве 290 образцов, содержащих HBsAg вируса гепатита В. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %.

1.2 Аналитическая чувствительность

Аналитическую чувствительность набора реагентов определяли с использованием стандартного образца предприятия «СО HBsAg», ООО «Диапроцесс». Значение аналитической чувствительности должно быть не менее 50 пг/мл.

2 Специфичность

Специфичность набора реагентов определяли с использованием следующих материалов:

- отрицательных сывороток стандартной панели «Стандарт (+/-) HBsAg», аттестованной ОБТК ООО «Диапроцесс». Специфичность набора реагентов с образцами панели без ложноположительных результатов должна составила 100 %.

2.1 Диагностическая специфичность

Диагностическую специфичность набора реагентов определяли в ходе клинических исследований с использованием следующих материалов:

- массива сывороток крови человека в количестве 1700 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена p24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

- массива плазмы крови человека с гепарином в количестве 1700 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена p24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

- массива плазмы крови человека с ЭДТА в количестве 1700 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена p24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

- массива плазмы крови человека с цитратом натрия в количестве 1700 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена p24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

- массива сывороток крови, состоящий из 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с гепатитом В (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (ВИЧ, ВГС, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%;

- массива плазмы крови человека с гепарином в количестве 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с гепатитом В (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (ВИЧ, ВГС, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%;

- массива плазмы крови человека с ЭДТА в количестве 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с гепатитом В (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (ВИЧ, ВГС, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%;

- массива плазмы крови человека с цитратом натрия в количестве 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с гепатитом В (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (ВИЧ, ВГС, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%;

2.2 Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность набора реагентов определяли с использованием рабочей панели сывороток «РП-АС (+/-) HBsAg», аттестованной ОБТК ООО «Диaproцесс». Специфичность набора реагентов с образцами панели без ложноположительных результатов составила 100 %.

3 Воспроизводимость

Внутрисерийная воспроизводимость набора реагентов была протестирована на сыворотках стандартной панели «Стандарт (+/-) HBsAg» и стандартного образца предприятия «СО HBsAg», поставленных в четырех повторах. Коэффициент вариации не превысил 8 %.

Межсерийная воспроизводимость набора реагентов была протестирована на сыворотках стандартной панели «Стандарт (+/-) HBsAg» и стандартного образца предприятия «СО HBsAg», поставленных в четырех повторах на 10 сериях набора реагентов. Коэффициент вариации не превысил 8 %.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

Потенциальный риск применения набора реагентов – класс 3 в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.06.2012 г «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий».

При работе с набором реагентов соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.) и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Кислота серная, входящая в состав «Р4», обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

«К1» содержит в качестве консервантов 0,27% проклин-300, «К2» содержит в качестве консерванта 0,35 % проклина 300. «Р1» содержит в качестве консерванта 0,1 % проклин-300. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными. При попадании данных растворов на кожу и слизистые промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

Сыворотка крови человека, использованная для контрольных образцов, является инактивированной, однако контрольные образцы следует рассматривать как потенциально инфицированный биологический материал, а анализируемые образцы – инфицированный биологический материал (ГОСТ Р ЕН 13641-2010 «Устранение и снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro»).

Сыворотка крови человека, использованная для получения «К2», проверена на отсутствие антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, T.pallidum, антигена р24 ВИЧ-1 и HBsAg.

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты (халат, шапочку или косынку, кожаные тапочки, одноразовые перчатки), т.к. контрольные и анализируемые образцы следует рассматривать как потенциально инфицированные.

При работе с набором реагентов не допускать переливание растворов из одного контейнера в другой.

Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочее место дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Обеззараживание и/или обезвреживание и утилизацию всех анализируемых образцов, компонентов и отходов набора реагентов, несущих потенциальную биологическую опасность, производить в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки на анализаторе «Элиза» необходимы следующие оборудование и материалы:

- анализатор иммуноферментный «Элиза», ООО «Диапроцесс»;
- холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С и /или холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- одноразовые наконечники вместимостью до 300 мкл, ООО «Диапроцесс»;
- одноразовые наконечники вместимостью до 800 мкл, ООО «Диапроцесс»;
- вода очищенная.

При ручной постановке анализа необходимы следующие оборудование и материалы:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерение оптической плотности (далее по тексту – ОП) в лунках планшетов при длине волны 450 нм и с возможностью съемки при длине волны от 620 до 700 нм;
- термостатирующий шейкер (с частотой вращения платформы 700 об/мин), поддерживающий температуру (42 ± 1) °С;

- устройство для промывки планшетов и/или восьмиканальный полуавтоматический дозатор пипеточный со сменными наконечниками;
- одноканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 10 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %;
- холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С и /или холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- вода очищенная.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Идентификацию и прослеживаемость анализируемых образцов (проб пациента) проводить в соответствии с системой менеджмента качества лаборатории.

Для ИФА использовать анализируемые образцы как свежеприготовленные, так и хранившиеся не более семи суток при температуре от 2 до 8 °С или не более шести месяцев при температуре минус 20 °С.

Подготовить анализируемые образцы, хранившиеся в холодильнике/морозильной камере, для анализа. Образцы, хранившиеся в морозильной камере разморозить. Каждый анализируемый образец, хранившийся в холодильнике/морозильной камере, прогреть до температуры от 17 до 27 °С и тщательно перемешать.

Объем используемого анализируемого образца для ИФА 80 мкл.

Антикоагулянты (гепарин, ЭДТА, цитрат натрия) не влияют на результаты анализа.

Для исключения ложноположительных результатов анализируемые образцы готовить и хранить в условиях, исключающих возможность бактериального пророста. Необходимо осветлять анализируемые образцы, содержащие осадок и агрегаты, путем центрифугирования в течение 15 мин при частоте вращения 3000 об/мин. Не использовать анализируемые образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериемией.

Избегать повторных циклов замораживания-оттаивания анализируемых образцов.

ПРИЧИНЫ СНИЖЕНИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИФА

Использование компонентов с истекшим сроком годности.

Использование компонентов из наборов реагентов разных серий.

Использование компонентов из наборов реагентов других производителей наборов реагентов.

Несоблюдение условий и сроков хранения вскрытых компонентов в случае постриповой постановки ИФА.

Несоблюдение условий забора крови и хранения анализируемых образцов, которые могут привести к разрушению анализируемого соединения или появлению в анализируемом образце веществ, искажающих результат ИФА.

Проведение анализа в неблагоприятных условиях окружающей среды - при температуре воздуха в лаборатории выше 25 °С и относительной влажности воздуха более 70 %.

Неправильное дозирование растворов, которое приводит как к росту, так и к снижению регистрируемой ОП.

Использование оборудования, не прошедшего регламентированного периодического технического обслуживания и/или эксплуатирующегося не в соответствии с инструкцией по применению на данное оборудование.

Неправильное использование устройства для промывки планшетов, приводящее к бактериальному или грибковому росту в емкости для промывочного раствора, соединительных шлангах и иглах.

Контакт раствора конъюгата и хромогена с металлическими предметами (результат ИФА чувствителен к присутствию ионов металлов).

Неполное заполнение и опорожнение лунок «Иммуносорбента» во время промывки, переполнение и перетекание жидкости в соседние лунки.

Высыхание лунок «Иммуносорбента» между отдельными операциями.

Использование для работы с компонентами, анализируемыми и контрольными образцами грязных наконечников.

Внесение анализируемых образцов одним наконечником.

Нарушение режима прогрева оборудования (спектрофотометра, термошейкера, анализатора «Элиза»)

Использование для дезинфекции посуды, оборудования, материалов и рабочих поверхностей неразрешенных и/или оказывающих влияния на результат ИФА дезсредств.

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Перед проведением ИФА все компоненты набора реагентов необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре от 17 до 27 °С.

Приготовление промывочного раствора

Для приготовления промывочного раствора необходимо смешать один объем «Концентрата промывочного раствора» с 24 объемами воды очищенной.

При проведении ИФА на одном или нескольких стрипах «Иммунсорбента» мерными цилиндрами отобрать необходимые объемы «Концентрата промывочного раствора» и воды очищенной в соответствии с таблицей 2, перенести в чистую лабораторную посуду и тщательно перемешать.

Залить промывочный раствор в предназначенную для него емкость анализатора «Элиза» или устройства для промывки планшет.

Хранение: промывочный раствор в чистой плотно закрытой емкости в течение 7 суток при температуре от 17 до 27 °С, неиспользованный вскрытый «Концентрат промывочного раствора» в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора реагентов при температуре от 2 до 8 °С.

Т а б л и ц а 2 – Расход «Концентрата промывочного раствора» при приготовлении промывочного раствора для проведения ИФА

Объем, мл	Количество используемых стрипов, шт.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
«Концентрат промывочного раствора»	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Вода очищенная	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600

Все компоненты набора реагентов находящиеся в картридже готовы к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

Постановка на анализаторе «Элиза»

1 Поместить анализируемые образцы в штативы для образцов. Следуя указаниям программного обеспечения анализатора «Элиза», загрузить штативы с анализируемыми образцами в анализатор «Элиза». Назначить всем образцам анализ «HBsAg».

ВНИМАНИЕ! При проведении анализа в анализаторе «Элиза» для разнесения «K1» и «K2» используют по 2 лунки планшета.

2 Поместить указанное число наконечников в штативы для наконечников.

3 Поместить картридж с реагентами «HBsAg» в позицию для размещения картриджей (в соответствии с указаниями программного обеспечения анализатора «Элиза»).

ВНИМАНИЕ! Запрещается самостоятельно прокалывать пленку в картриджах или иными способами нарушать герметичность картриджей.

4 Вскрыть пакет с «Иммунсорбентом», вынуть из пакета необходимое для проведения анализа число стрипов, указанное анализатором «Элиза», и закрепить на рамке.

ВНИМАНИЕ! Число используемых стрипов в одном анализе должно быть кратно 3. Если число используемых стрипов не кратно 3, необходимо дополнить рамку недостающим числом «пустых» стрипов, чтобы общее число стрипов стало 3, 6, 9 или 12.

Оставшиеся стрипы упаковать в пакет с вложенным в него влагопоглотителем, плотно закрыть замок пакета и поместить его в холодильник.

Закрепить рамку со стрипами в рамку-держатель и поместить ее в указанный анализатором «Элиза» инкубатор для разнесения образцов.

5 Запустить программу проведения анализа, которые включают в себя следующие стадии:

- внесение в лунки «Иммуносорбента» контрольных и анализируемых образцов;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р1»;
- инкубация «Иммуносорбента» в термошейкере;
- промывка «Иммуносорбента» промывочным раствором;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р2»;
- инкубация «Иммуносорбента» в термошейкере;
- промывка «Иммуносорбента» промывочным раствором;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р3»;
- инкубация «Иммуносорбента» в термошейкере;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р4»;
- регистрация результатов анализа.

6 После окончания анализа анализатор «Элиза» должен выдать протокол результатов исследования.

Для ручной постановки анализа

Вскрыть пакет с «Иммуносорбентом», вынуть из пакета необходимое для проведения анализа число стрипов и закрепить их на рамке. Оставшиеся стрипы упаковать в пакет с вложенным в него влагопоглотителем, плотно закрыть замок пакета и поместить его в холодильник.

Внесение контрольных и анализируемых образцов	Аккуратно проткнуть фольгу над картриджем «К1» и внести по 80 мкл в две лунки «Иммуносорбента»; Аккуратно проткнуть фольгу над картриджем «К2» и внести по 80 мкл в две лунки «Иммуносорбента»; Внести в остальные лунки - по 80 мкл анализируемых образцов
Внесение	Аккуратно проткнуть фольгу над картриджем «Р1» и добавить по 20 мкл раствора «Р1» во все лунки с образцами
Инкубация	«Иммуносорбент» инкубировать при температуре 42 °С в термостатирующем шейкере с частотой вращения платформы 700 об/мин в течение 15 мин
Промывка	С помощью устройства для промывки планшетов или дозатора пипеточного промыть лунки «Иммуносорбента» один раз промывочным раствором. Остатки раствора удалить, постукивая перевернутым «Иммуносорбентом» (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге
ВНИМАНИЕ! На каждой операции промывки лунки «Иммуносорбента» должны быть заполнены не менее чем 380 мкл промывочного раствора. Следить за тем, чтобы отработанный раствор был полностью удален из лунок «Иммуносорбента» перед последующим заполнением новой порцией раствора	
Внесение	Аккуратно проткнуть пленку над картриджем «Р2» и внести по 100 мкл раствора «Р2» во все лунки
Инкубация	«Иммуносорбент» инкубировать при температуре 42 °С в термостатирующем шейкере с частотой вращения платформы 700 об/мин в течение 10 мин
Промывка	С помощью устройства для промывки планшетов или дозатора пипеточного промыть лунки «Иммуносорбента» шесть раз

	промывочным раствором. Остатки раствора удалить, постукивая перевернутым «Иммуносорбентом» (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге
Внесение	Аккуратно проткнуть пленку над картриджем «Р3» и внести по 100 мкл раствора «Р3» во все лунки
Инкубация	«Иммуносорбент» инкубировать при температуре 42 °С в термостатирующем шейкере с частотой вращения платформы 700 об/мин в течение 10 мин
Внесение	Аккуратно проткнуть пленку над картриджем «Р4» и добавить по 50 мкл раствора «Р4» во все лунки
Регистрация результатов анализа	Выполнить в соответствии с «Процедурой измерения и оценки результата» данного раздела

В случае неполного использования набора реагентов использованные картриджи разрешается хранить для дальнейшего использования при температуре от 2 до 8 °С не более двух недель. Для этого необходимо плотно заклеить картридж клеящей пленкой для картриджей в месте разгерметизации фольги картриджа.

Процедура измерения и оценка результата

Измерение ОП раствора в лунках на анализаторе «Элиза» или спектрофотометре проводить в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне от 620 до 700 нм.

1 Учет результатов анализа

Для интерпретации результатов рассчитывают значения:

- средней ОП отрицательных контрольных образцов по формуле

$$ОП(K2)_{ср.} = \frac{ОП(K2)_1 + ОП(K2)_2}{2} \quad (1)$$

- критической ОП по формуле

$$ОП_{крит.} = ОП(K2)_{ср.} + X, \quad (2)$$

где X – коэффициент, индивидуальный для каждой серии набора реагентов, указанный в приложении к инструкции;

- коэффициента позитивности по формуле

$$КП_{образца} = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{крит.}} \quad (3)$$

- средней ОП положительных контрольных образцов по формуле

$$ОП(K1)_{ср.} = \frac{ОП(K1)_1 + ОП(K1)_2}{2} \quad (4)$$

2 Условия правильности работы набора реагентов

Результаты учитывать только в том случае, если:

- среднее значение ОП в лунках с «K1» (ОП(K1)ср.) – более 1,000 о.е.;
- среднее значение ОП в лунках с «K2» (ОП(K2)ср.) – менее 0,200 о.е.

3 Интерпретация результатов анализа

Анализируемый образец расценивать как **отрицательный**, т.е. не содержащий поверхностный антиген HBsAg вируса гепатита В, если ОП_{образца} менее ОП_{крит.} (ОП_{образца} < ОП_{крит.}) или если КП_{образца} менее 1 (КП_{образца} < 1).

Анализируемый образец расценивать как **положительный**, т.е. содержащий поверхностный антиген HBsAg вируса гепатита В, если ОП_{образца} равна или более ОП_{крит.} (ОП_{образца} ≥ ОП_{крит.}) или КП_{образца} равен или более 1 (КП_{образца} ≥ 1).

Для подтверждения положительных результатов необходимо использовать подтверждающие тесты.

Данный набор реагентов нельзя использовать для постановки диагноза.

4 Ограничения теста

Инкубационный период гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. HBsAg обнаруживается при анализе крови уже через 4-6 недель после заражения. При остром течении болезни HBsAg исчезает из крови к концу первого месяца от начала желтухи.

УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

В процессе использования и утилизации наборов реагентов с истекшим сроком годности токсичные отходы не образуются.

Отходы, образующиеся в процессе использования набора реагентов относить к классу Б.

Наборы реагентов с истекшим сроком годности утилизировать как отходы класса Б.

Обращение (сбор, временное хранение, обеззараживание и/или обезвреживание и транспортирование) отходов, образующихся в процессе использования набора реагентов и утилизации наборов реагентов с истекшим сроком годности, проводить согласно СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Для обеззараживания и/или обезвреживания отходов в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» использовать зарегистрированные в РФ дезсредства и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению.

Отходы утилизировать через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Срок годности набора реагентов «HBsAg» - 12 месяцев.

Набор реагентов хранить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 «Условия транспортирования и хранения иммунобиологических лекарственных препаратов» при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности. Воздействие температуры не выше 27 °С в течение 10 суток.

Транспортирование наборов реагентов производить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре не выше 27 °С в течение 10 суток. Замораживание наборов реагентов не допускается.

Разрешается хранить частично использованные картриджи с растворами реагентов и контролей плотно заклеенные клеящей пленкой для картриджей при температуре от 2 до 8 °С не более двух недель.

Разрешается хранить промывочный раствор в чистой плотно закрытой емкости в течение 7 суток при температуре от 17 до 27 °С, неиспользованный вскрытый «Концентрат промывочного раствора» в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора реагентов при температуре от 2 до 8 °С.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых наборов реагентов требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки набора реагентов, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил применения, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить набор реагентов, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием

скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления набора реагентов производителем.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, обращаться на предприятие-изготовитель ООО «Диапроцесс» по адресу:

630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 16;

тел. 8-(383)-214-46-60

e-mail: info@diaprocess.ru

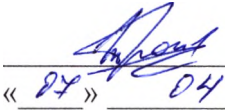
Символы, применяемые для маркировки набора реагентов

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014			
	Использовать до		Не использовать повторно
	Дата изготовления		Обратитесь к инструкции по применению
	Код партии		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Не допускать воздействия солнечного света		Не использовать при повреждённой упаковке
	Беречь от влаги	 	Содержимого достаточно для 96 и 192 тестов, соответственно
	Температурный диапазон		
	Биологический риск		
ГОСТ 31340-2013			
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

Дата создания: 07.04.2016

РАЗРАБОТАНО

Начальник производственного отдела
ООО «Диапроцесс»


« 04 » 04 А.В. Тронин
201 6 г.

