

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный

санитарный врач

Российской Федерации

Е.Е. Смирнов

№

84-11/11-25

ИНСТРУКЦИЯ

по применению «Гепатрип»

тест-системы иммуноферментной для выявления HBsAg

Вариант 1.02

Тест-система «Гепатрип» представляет собой набор, включающий два комплекта компонентов для проведения твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления HBsAg вируса гепатита В.

Комплект №1 «Гепатрип В» включает: иммуносорбент - антитела к HBsAg, иммобилизованные в лунках полистиролового планшета (разборный, 6х16); концентрат конъюгата (х20, мышиные моноклональные антитела к HBsAg, меченные пероксидазой хрена) - прозрачная вязкая жидкость розового цвета; положительный контрольный образец (K^+), содержащий 20-50 МЕ/мл HBsAg, инактивированный; отрицательный контрольный образец (K^-).

Взамен Инструкции по применению, утвержденной МЗ Р 21 мая 1998

КОПИЯ
ВЕРНАНИКАРМЕДИК
ПЛЮС

содержащий сыворотку крупного рогатого скота и не содержащий HBsAg; слабо положительный контрольный образец (K^+_2), содержащий 0,5 МЕ/мл HBsAg, инактивированный, - прозрачные, слегка опалесцирующие жидкости, желтого цвета (допускается незначительное помутнение и осадок); буферный раствор для разведения конъюгата - раствор сывороточных белков, содержащий детергенты, - прозрачная жидкость желто-зеленого цвета; раствор для разведения хромогена (концентрата ТМБ) - прозрачная бесцветная жидкость; фосфатно-солевой буферный раствор с Твином (ФСБ-Т), концентрат (x10), отмывающий буфер - прозрачная бесцветная жидкость, допускается легкая опалесценция и образование осадка на дне флакона; хромоген (концентрат ТМБ) - прозрачная жидкость розового цвета; стоп-реагент, 2 М раствор серной кислоты - прозрачная бесцветная жидкость.

Комплект №2 «Гепаблок» (подтверждающий тест) включает: контрольный гамма - глобулин, блокирующие антитела к HBsAg - прозрачные жидкости - от желто-зеленого до фиолетового цвета; контроль блокировки (HBsAg) - прозрачная жидкость розового цвета; слабо положительный контрольный образец (K^+_2), содержащий 0,5 МЕ/мл HBsAg, инактивированный - прозрачная, слегка опалесцирующая жидкость, желтого цвета (допускается незначительное помутнение и осадок).

Комплект № 1 рассчитан на 96 определений, включая контрольные.

Комплект № 2 рассчитан на 30 определений, включая контрольные.

НАЗНАЧЕНИЕ

Выявление поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотках и плазме крови человека. «Гепаблок» (подтверждающий тест) предназначен для проверки образцов, которые в тест-системе «Гепастрип» дают воспроизводимый положительный результат.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Тест-система выявляет HBsAg в сыворотке и плазме крови человека за счет его связывания со специфическими поликлональными антителами, сорбированными на поверхности лунок планшетоов, и образования комплекса антиген-антитело, обнаруживаемого с помощью конъюгата - мышиных моноклональных антител, меченных пероксидазой хрена, - по цветной реакции с хромогеном. Чувствительность ИФА не более 0,1 МЕ/мл HBsAg.

С тест-системой и исследуемыми образцами следует обращаться как с потенциально инфекционными материалами: работать в резиновых перчатках; не пипетировать ртом; для предотвращения выброса материала при разгерметизации флаконов пробку следует сначала слегка приоткрыть, а лишь затем извлечь полностью; все использованные материалы подвергать обработке 6% раствором перекиси водорода с последующей выдержкой при температуре от 18 до 25 °C не менее 2-х часов.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Подготовка реагентов

Все реактивы и пробы до начала проведения анализа выдержать 15 мин при

температуре от 18 до 25 °С.

Раствор 1 (ФСБ-Т).

Нужный объем 10-кратного концентрата ФСБ-Т (для 32-х лунок - 25 мл) перенести из флакона 8 в бутылку с 9-кратным объемом дистиллированной воды (на 25 мл концентрата - 225 мл дистиллированной воды) и тщательно перемешать. Хранить при температуре от 2 до 8 °С до 1 мес.

Раствор 2 (рабочий раствор конъюгата).

Из флакона 6 отобрать в чистый флакон нужное количество буфера для разведения конъюгата (2 мл для 32-х лунок) и добавить к нему из микропробирки во флаконе 2 соответствующее количество концентрата конъюгата (100 мкл на 2 мл буфера для 32-х лунок), перемешать. Концентрат конъюгата - вязкий раствор, поэтому необходимо внимательно следить за наполнением наконечника. Раствор 2 готовится перед проведением анализа и хранению не подлежит. Готовый раствор имеет зеленоватый цвет.

Раствор 3 (рабочий раствор ТМБ).

Смешать в равных объемах хромоген (концентрат ТМБ) (флакон 9) и раствор для разведения хромогена (флакон 7) (для 32-х лунок - по 2 мл каждого реагента), добавляя бесцветный раствор для разведения хромогена к розовому концентрату ТМБ, перемешать. Раствор 3 готовится за 30 мин до использования. Если за это время рабочий раствор ТМБ посинел, его следует выбросить и смесь приготовить заново. Раствор 3 хранению не подлежит.

ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

1. Отобрать необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы завернуть в чистый полиэтиленовый пакет и хранить при температуре от 2 до 8 °С.
2. Стрипы, предназначенные для проведения анализа, выдержать при температуре от 18 до 25 °С в течение 15 мин. Перед началом работы лунки промыть дважды раствором 1 (ФСБ-Т).
3. Во все лунки внести по 50 мкл рабочего раствора конъюгата (раствор 2) и путем осторожного постукивания добиться равномерного распределения жидкости на дне лунки. *Раствор конъюгата - жидкость зеленоватого цвета.*
4. Внести исследуемые образцы (по 100 мкл) во все лунки, кроме A1, B1, C1, D1, E1 и F1. Внести контрольные образцы (по 100 мкл): отрицательный контроль (K^-) из флакона 4 добавить в три лунки (A1, B1, C1), в одну лунку (D1) добавить положительный контроль (K^+_1) из флакона 3, в две лунки (E1 и F1) поместить слабо положительный контрольный образец (K^+_2) из флакона 5. *При внесении образцов раствор в лунках приобретает голубой цвет.*
5. Содержимое лунок перемешать осторожным постукиванием по краю рамки. Планшет прикрыть крышкой, поместить во влажную камеру и поставить в термостат при температуре от 37 до 38 °С на 2 часа.
6. По окончании инкубации содержимое лунок собрать и поместить в дезинфицирующий раствор. Планшет промыть 8 раз используя раствор

ФСБ-Т в рабочей концентрации (раствор 1). Следить за тем, чтобы лунки заполнялись доверху, а продолжительность одного цикла отмывания составляла примерно 30 сек. При отмывании вошером по возможности использовать «двойной аспирационный» этап для максимального осушения лунок. Остатки ФСБ-Т «выбить» на чистую фильтровальную бумагу.

7. В каждую лунку планшета внести 100 мкл рабочего раствора ТМБ (раствор 3).
8. Планшет накрыть крышкой и выдержать 30 мин в защищенном от света месте - при температуре от 37 до 38 °С. *При наличии HBsAg раствор в лунках синеет.*
9. Реакцию остановить добавлением в каждую лунку 50 мкл стоп-реактанта из флакона 10 и сразу произвести учет результатов.

Учет результатов

Величину оптической плотности (ОП) в лунках измеряют с помощью вертикального фотометра в двухволновом режиме с корректирующей волной в диапазоне 620 - 690 нм - при длине основной волны 450 нм. Подсчитать среднюю величину ОП для трех лунок с отрицательным контролем.

Для оценки результатов реакции устанавливается критическая величина оптической плотности (ОП_{крит}). Значение ОП_{крит} определяется на основе среднего значения ОП для К⁻ в каждом конкретном исследовании

по одному из двух критериев:

$$\text{ОПкрит} = \text{а) } \text{ОП}_{K^-}(\text{ср}) + 0,04 \text{ или б) } \text{ОП}_{K^-} \times 1,5$$

За ОПкрит принимают наибольшее из двух («а» или «б») полученных значений. Результаты подлежат оценке и анализу, если средняя величина ОП в лунках с отрицательным контролем (K^-) не превышает 0,15, в лунке с K^+_1 превышает среднее значение ОП отрицательного контроля не менее, чем на 1,0, а среднее значение ОП в лунках с K^+_2 превышает ОПкрит.

Исследуемые образцы с величиной ОП ниже критической величины считаются HBsAg-отрицательными. Исследуемые образцы с величиной ОП равной или превышающей критическую величину, следует отцентрифугировать и повторно проверить в двух параллельных лунках. Образцы, повторно дающие результат равный или превышающий критическую величину, исследуют в подтверждающем тесте.

Проведение подтверждающего теста

1. Отобрать необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся стрипы завернуть в чистый полиэтиленовый пакет и хранить при температуре от 2 до 8 °С.
2. Стрипы, предназначенные для проведения анализа, выдержать при температуре от 18 до 25 °С в течение 15 мин. Перед началом работы лунки промыть дважды раствором 1 (ФСБ-Г), полученным из флакона 8 комплекта № 1 «Гепастрип В» (см. раздел «Подготовка реагентов»).
3. В лунки рядов А, С, Е и G внести по 25 мкл контрольного гамма-

глобулина из флакона 01, а в лунки рядов В, D, F и H - по 25 мкл блокирующих антител из флакона 02.

4. В лунки A1 и B1 внести по 75 мкл контроля блокировки из флакона 03, в лунки C1 и D1 внести по 75 мкл слабо положительного контрольного образца из флакона 04, а в остальные лунки - по 75 мкл исследуемых образцов. Каждый образец необходимо исследовать параллельно в лунках с блокирующими антителами и с контрольным гамма-глобулином в одном стрипе. Образцы с низким содержанием HBsAg ($ОП < 0,5$), а также препараты крови исследуют без разведения, используя по две параллельные лунки с контрольным гамма-глобулином и по две параллельные лунки с блокирующими антителами. Образцы с более высоким содержанием HBsAg ($ОП > 0,5$) исследуют без разведения и в разведении 1:50, используя для каждого варианта по одной лунке с контрольным гамма-глобулином и с блокирующими антителами. Каждый тестируемый образец следует вносить сначала в лунки с контрольным реагентом, а затем в лунки с блокирующим реагентом (но не наоборот) во избежание заноса блокирующих антител в контрольные лунки.
5. В каждую лунку добавить 50 мкл рабочего раствора конъюгата (раствор 2), полученного из флакона 6 комплекта № 1 «Гепатрип В» (см. раздел «Подготовка реагентов»). Следует особо следить за тем, чтобы наконечники не касались содержимого и поверхности лунок.

6. Содержимое лунок перемешать осторожным постукиванием по краю рамки. Планшет накрыть крышкой, поместить во влажную камеру и инкубировать 2 часа при температуре от 37 до 38 °С.
7. По окончании инкубации содержимое лунок собрать и поместить в дезинфицирующий раствор. Планшет промыть 8 раз, используя раствор ФСБ-Т в рабочей концентрации (раствор 1), полученный из флакона 8 комплекта № 1 «Гепастрип В» (см. раздел «Подготовка реагентов»). Следить за тем, чтобы лунки заполнялись доверху, а продолжительность одного цикла отмывания составляла примерно 30 сек. При отмывании вошером по возможности использовать «двойной аспирационный» этап для максимального осушения лунок. Остатки ФСБ-Т «выбить» на чистую фильтровальную бумагу.
8. В каждую лунку планшета внести 100 мкл рабочего раствора ТМБ (раствор 3), полученного из флакона 9 комплекта № 1 «Гепастрип В» (см. раздел «Подготовка реагентов»).
9. Планшет накрыть крышкой и выдержать 30 мин в темноте при температуре от 37 до 38 °С.
10. Реакцию остановить добавлением в каждую лунку 50 мкл стоп-реагента из флакона 10 комплекта № 1 «Гепастрип В» и сразу произвести учет результатов.

Учет результатов подтверждающего теста

Величину оптической плотности (ОП) в лунках измеряют с помощью

вертикального фотометра в двухволновом режиме с корректирующей волной в диапазоне 620 - 690 нм - при длине основной волны 450 нм. Оценка результатов проводится на основе сравнения лунок с контрольным гамма-глобулином и соответствующих лунок с блокирующими антителами. Для параллельных лунок вычисляется среднее значение ОП. Для каждого варианта рассчитывается % подавления по приведенной ниже формуле.

$$\text{Подавление (\%)} = \frac{(\text{ОП}_\text{к} - \text{ОП}_\text{б})}{\text{ОП}_\text{к}} \times 100,$$

где $\text{ОП}_\text{к}$ — величина ОП в лунках с контрольным гамма-глобулином, $\text{ОП}_\text{б}$ — величина ОП в лунках с блокирующими антителами. Образец считается HBsAg-положительным, если подавление $\geq 40\%$. Если подавление $< 40\%$, а $\text{ОП}_\text{б} \leq 0,5$, образец считается HBsAg-отрицательным. Если подавление $< 40\%$, а $\text{ОП}_\text{б} > 0,5$, образец необходимо перепроверить при более высоком разведении (например, 1:50).

Образец считается HBsAg-отрицательным, если $\text{ОП}_\text{к} < 0,07$ независимо от величины $\text{ОП}_\text{б}$.

Если подтверждающий тест дает положительный результат, присутствие HBsAg в образце следует считать доказанным и дальнейшая проверка не требуется.

ФОРМА ВЫПУСКА

Тест-система «Гепатрип» выпускается в виде набора, включающего

два комплекта: Комплекта №1 «Гепастрип В», упакованного в картонную коробку, и Комплекта №2 «Гепаблок» (подтверждающий тест), упакованного в картонную пачку.

Вариант 1.02

Комплект №1 «Гепастрип В»

- | | | |
|----|--|---------|
| 1 | Иммуносорбент – антитела к HBsAg, иммобилизованные в лунках полистиролового планшета (разборный, 6x16) | — 1 шт. |
| 2 | Концентрат конъюгата (моноклональные антитела к HBsAg, меченные пероксидазой хрена) — 0,35 мл | — 1 фл. |
| 3 | Положительный контрольный образец (K^+) — 0,5 мл | — 1 фл. |
| 4 | Отрицательный контрольный образец (K^-) — 1,0 мл | — 1 фл. |
| 5 | Слабо положительный контрольный образец (K^+_{2}) - 1,0 мл | — 1 фл. |
| 6 | Буферный раствор для разведения конъюгата — 7,0 мл | — 1 фл. |
| 7 | Раствор для разведения хромогена (концентрата ТМБ)— 12,0 мл | — 1 фл. |
| 8 | Фосфатно-солевой буферный раствор с Твином (ФСБ-Т), концентрат — 75,0 мл | — 1 фл. |
| 9 | Хромоген (концентрат ТМБ) — 12,0 мл | — 1 фл. |
| 10 | Стоп – реагент — 7,0 мл | — 1 фл. |
| | Инструкция | — 1 шт. |

Комплект №1 рассчитан на 96 определений включая, контрольные.

Комплект №2 «ГепАБлок» (подтверждающий тест)

01	Контрольный гамма-глобулин — 1,5 мл	— 1 фл.
02	Блокирующие антитела к HBsAg — 1,5 мл	— 1 фл.
03	Контроль блокировки (HBsAg) — 2,0 мл	— 1 фл.
04	Слабо положительный контрольный образец (K^+_2) - 2,0 мл	— 1 фл.
	Инструкция	— 1 шт.

Комплект №2 «ГепАБлок» (подтверждающий тест) рассчитан на 30 определений и поставляется по желанию потребителя.

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности — 6 месяцев. По истечении срока годности тест-система применению не подлежит.

Хранение в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С в недоступном для детей месте.

Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С. Допускается кратковременное (в течение 2 дней) транспортирование при температуре от 9 до 25 °С.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для лечебно – профилактических и санитарно – профилактических учреждений.

Рекламации на качество тест-системы просьба направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу: 119002, Москва, Сивцев Вражек, 41, тел. (095) 241-39-22, факс (095) 241-92-38 и в адрес предприятия - производителя ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» по адресу: 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, тел. (095) 193-30-04, (095) 193-43-81, факс (095) 193-43-50.

Генеральный директор

ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»



В.Г.Нестеренко

ИНСТРУКЦИЯ

по медицинскому применению препарата

ГепатСтрип

Регистрационный номер: № ЛС - 000890

Изменение № 1

Срок введения изменения с "27" октября 2006 г.

Старая редакция	Новая редакция
Рекламации на качество тест-систем направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу: 119002, Москва, Сивцев Вражек, 41, тел. (095) 241-39-22, факс (095) 241-92-38 и в адрес предприятия-производителя: ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» по адресу: 123098, Москва, ул. Гамалей, 18, тел. (095) 193-30-04, (095) 193-43-81, факс (095) 193-43-50.	Рекламации на качество тест-систем направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу: 119002, Москва, Сивцев Вражек, 41, тел. (495) 241-39-22, факс (095) 241-92-38 и в адрес предприятия-производителя: ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» по адресу: 123098, Москва, ул. Гамалей, 18, тел. (499) 193-30-04, (499) 193-43-81, факс (499) 193-43-50.

Генеральный директор
ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»



В.Г. Нестеренко

М.П.

«10» сентября 2006 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по медицинскому применению препарата

Гепастрин

Регистрационный номер: № ЛС - 000890

Изменение № 2

Срок введения изменения с "12" июня 2007 г.

Старая редакция	Новая редакция
Рекламации на качество тест-систем направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу: 119002, Москва, Сивцев Вражек, 41, тел. (095) 241-39-22, факс (095) 241-92-38 и в адрес предприятия-производителя: ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» по адресу: 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, тел. (095) 193-30-04, (095) 193-43-81, факс (095) 193-43-50.	Рекламации на качество тест-систем направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу: 119002, г. Москва, Сивцев Вражек, 41, тел. (495) 241-39-22, факс (095) 241-92-38 и в адрес предприятия-производителя: ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» по адресу: 125047, г. Москва, ул. 4-ая Тверская-Ямская, д. 2/11, строение 2, телефон/факс: (495) 741-49-89.

Генеральный директор
ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»



В.Г. Нестеренко

М.П.

«10» июля 2007 г.