

Код ОКП 939817

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от 2008 г.
№

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические
системы»

И. Е. Колосов

2008 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
"ИФА-АНТИ-НВс-М-СКРИН"

**Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса Ig М к
core-антигену вируса гепатита В**

Состав набора:

Иммуносорбент – рекомбинантный core-антиген вируса гепатита В, сорбированный на планшете полистироловом 96-луночном разборном;

Конъюгат (концентрат х 10), жидкий – моноклональные антитела мыши к иммуноглобулину класса Ig М человека, конъюгированные с пероксидазой хрена;

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

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

БР - блок-раствор для рабочего разведения сывороток и разведения концентрата конъюгата;

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 выпускается в двух комплектах.

комплект 1 рассчитан на одновременное проведение 96 (8 x 12) определений, включая контрольные, для ручной постановки или для постановки на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа;

комплект 2 - на одновременное проведение 96 (8 x 12) определений, включая контрольные для ручной постановки.

Описание реагентов набора:

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

Конъюгат (концентрат x 10) - прозрачная или слегка опалесцирующая синего цвета жидкость;

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

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

БР (блок раствор) - прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость, допустимо образование аморфного осадка, при встряхивании распадающегося и приводящего к помутнению раствора;

ПР (концентрат x 25) промывочный раствор - прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование кристаллического 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 IgM к core-антигену вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови человека с целью ранней

специфической диагностики инфекции.

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/см² (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/см² (0,15 МПа) и 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!

Перед использованием все реагенты набора выдержать 30 мин при температуре от 18 до 24 °С.

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

Для отбора проб используют калиброванные автоматические пипетки с погрешностью измерения не более, указанной в паспорте на данный прибор.

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 полуавтоматические одноканальные с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл с наконечниками;

5. Пипетка полуавтоматическая восьмиканальная, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл, с наконечниками;

6. Вода дистиллированная;

7. Бумага фильтровальная лабораторная;

8. Перчатки резиновые или пластиковые.

2. Приготовление рабочих растворов

Все растворы необходимо отбирать одноразовыми наконечниками.

Объёмы реагентов при проведении анализа на необходимом количестве стрипов приведены в таблице 1.

Таблица 1

Таблица расхода компонентов тест-системы.

Количество используе-мых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Конъюгат, рабочий раствор		СС	
	ПР (конц x 25) (мл)	Дистиллированная вода (мл)	Конъюгат (конц x 10) (мл)	БР (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
1	2,0	48,0	0,1	0,9	0,1	1,0
2	4,0	96,0	0,2	1,8	0,2	2,0
3	6,0	144,0	0,3	2,7	0,3	3,0
4	8,0	192,0	0,4	3,6	0,4	4,0
5	10,0	240,0	0,5	4,5	0,5	5,0

6	12,0	288,0	0,6	5,4	0,6	6,0
7	14,0	336,0	0,7	6,3	0,7	7,0
8	16,0	384,0	0,8	7,2	0,8	8,0
9	18,0	432,0	0,9	8,1	0,9	9,0
10	20,0	480,0	1,0	9,0	1,0	10,0
11	22,0	528,0	1,1	9,9	1,1	11,0
12	24,0	576,0	1,2	10,8	1,2	12,0

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). Полученный раствор тщательно перемешать.

Хранение: рабочий промывочный раствор хранить не более 3-х суток при температуре от 2 до 8 °С. Оставшийся неиспользованным ПР (концентрат х 25) хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой крышкой), на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

К- - контрольный отрицательный образец, готов к применению.

Хранение: после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным К- хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой крышкой), на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

К+ - контрольный положительный образец, готов к применению.

Хранение: после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным К+ хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой крышкой), на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

БР (блок-раствор) – для разведения исследуемых образцов и концентрата конъюгата, готов к применению.

Хранение: после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным БР хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой крышкой), на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

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

Хранение: После вскрытия флакона оставшийся неиспользованным концентрат конъюгата хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой крышкой), на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

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

Хранение: после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ТМБ хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой крышкой), на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

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

Хранение: после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным СБ хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой крышкой), на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

СС - субстратная смесь - готовить перед использованием, хранению не подлежит. В одноразовой емкости смешать необходимое количество ТМБ и необходимое количество СБ (согласно табл. 1). Полученный раствор тщательно перемешать.

Субстратная смесь должна быть бесцветной!

Стоп – реагент - готов к применению.

Хранение: после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным стоп – реагент хранить во флаконе, плотно закупоренном пробкой (закрытом винтовой

крышкой), 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 сут 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.

Внимание!: иммуносорбент необходимо выдержать в закрытом пакете при температуре от 18 до 24 °С во избежание конденсации влаги в лунках планшета.

Перед использованием набора необходимо вскрыть фольгированный пакет, 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 месяца при температуре от 2 до 8 °С.

Перед использованием иммуносорбент не промывать!

4.1. В две лунки стрипов планшета дозатором пипеточным вносят по 50 мкл К+, в три лунки стрипов планшета вносят по 50 мкл К-. В остальные лунки вносят по 45 мкл блок-раствора и по 5 мкл исследуемых образцов сывороток, далее во все лунки вносят по 100 мкл рабочего раствора конъюгата и содержимое лунок тщательно перемешивают осторожным постукиванием по краю планшета.

Планшет покрывают крышкой и выдерживают 30 мин при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

4.2. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью вошера или многоканальной пипетки), планшет промыть 8 раз 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.

4.3. Во все лунки стрипов вносят по 100 мкл субстратной смеси, затем планшет покрывают крышкой и выдерживают 30 мин при температуре от 18 до 24 $^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте.

4.4. Реакцию останавливают добавлением в лунки по 50 мкл стоп-реактанта и немедленно производят 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 ОП в лунке с K^+ не менее 1,0, а среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,2.

Положительными считают образцы со значениями ОП, превышающими или равными критическому значению ОП (ОП крит.).

ОП крит. рассчитывают по формуле:

$$\text{ОП крит.} = \text{ср. знач. ОП К-} + A,$$

где A - 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

	Комплект 1	Комплект 2
Иммуносорбент	1 шт.	1 шт.
Конъюгат (концентрат х 10)	2,0 мл-1 фл	1,4 мл – 1 фл.
К+	2,0 мл-1 фл.	1,0 мл – 1 фл.
К-	7,0 мл-1 фл.	3,5 мл – 1 фл.
БР	40,0 мл-1 фл.	20,0 мл – 1 фл.
ПР (концентрат х 25).	80,0 мл-1 фл.	50,0 мл - 1 фл.
СБ	42,0 мл-1 фл.	25,0 мл – 1 фл.
ТМБ	2,5 мл-1 фл.	1,5 мл – 1 фл.
Стоп-реагент	30,0 мл-1 фл.	7,5 мл – 1 фл.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению и рамку для стрипов. Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

- крышка к полистироловым 96-луночным планшетами;
- одноразовые наконечники;
- пластиковая ванночка для жидких реагентов;
- пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению и рамку для стрипов. Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

- крышка к полистироловым 96-луночным планшетами;
- одноразовые наконечники;
- пластиковая ванночка для жидких реагентов;
- пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом.

Срок годности. Условия транспортирования и хранения.

Срок годности набора - 12 мес.

По истечении срока годности набор использованию не подлежит.

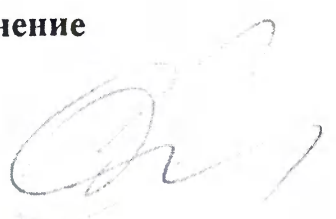
Транспортирование наборов должно производиться при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 10 сут. Замораживание не допускается.

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

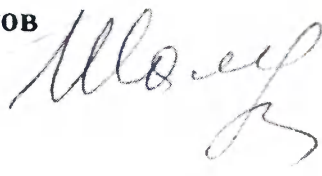
Условие отпуска - Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу 119002, Россия, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел.: (495) 241-39-22, факс: (495) 241-92-38 и в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12.

Директор ООО
«Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»
по производству


Г. А. Полянская

Зав. лаборатории посттрансфузионных
гепатитов и контаминирующих агентов
ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича
Роспотребнадзора, д.м.н.


Н. В. Шалунова



Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 10 лист
Начальник ЛАП «ДС» Гейне Д.

