

ТВЕРЖДЕНА

приказом Росздравнадзора

г. _____ 20 ____ г.

№ _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора

ООО «Научно-производственное

объединение «Диагностические системы»



О.Н. Шлюндин

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

Набора реагентов

«ДС-ИФА-АНТИ-HAV-G-РЕКОМБ»

Тест-система иммуноферментная

для выявления антител класса IgG к вирусу гепатита А

на основе рекомбинантных антигенов,

набор диагностический

Разработана впервые

Содержание

Назначение 3

Состав набора 3

Аналитические и диагностические характеристики набора 4

Меры предосторожности..... 4

Инструкции по безопасности..... 5

Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов..... 5

Отбор и подготовка образцов 6

Подготовка реагентов 6

Проведение анализа 7

Учет результатов 8

Срок годности. Условия хранения и транспортирования 9

Объяснения символов 9

реагентов выпускается в одном комплекте:
 рассчитан на проведение 96 определений, включая контрольные, предназначен для постановки с возможностью дробного использования набора до одной лунки.

НАЗНАЧЕНИЕ

реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HAV-G-РЕКОМБ» Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к вирусу гепатита А в сыворотке (плазме) крови человека

СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-АНТИ-HAV-G-РЕКОМБ»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Сорбент - планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунки каждый, разборность до 1 лунки), в лунках которого сорбированы чужеродные белковые антигены, аналоги структурных и неструктурных белков гепатита А (HAV): структурный нуклеокапсидный белок VP4-VP2 и неструктурные белки VP1-VP3.	1 планшет
Конъюгат (концентрат х 11) – моноклональные антитела мыши к глобулину G человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Жидкость бесцветная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета.	1 флакон 1,5 мл
Контрольный положительный образец) - сыворотка крови человека, содержащая антитела класса IgG к вирусу гепатита А (анти-HAV-G), не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, конъюгированная.	1 флакон 1,5 мл
Контрольный отрицательный образец) - сыворотка крови человека, не содержащая анти-HAV-G, не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и гепатита С; инактивированная.	1 флакон 3,0 мл
Раствор для разведения конъюгата - для разведения исследуемых образцов. Жидкость бесцветная или слегка опалесцирующая фиолетово-синего цвета.	1 флакон 12,5 мл
Раствор для разведения конъюгата - при температуре от 2 до 8 °С – бесцветная желтого цвета жидкость, при температуре от 18 до 24 °С становится опалесцирующей.	1 флакон 12,5 мл
Концентрат х 25) - промывочный раствор. Жидкость бесцветная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета, допустимо образование осадка, полностью исчезающего при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл
Буферный раствор, содержащий лимонную кислоту, натрия ацетат, раствор перекиси водорода. Жидкость бесцветная.	1 флакон 15,0 мл
Раствор, содержащий 3,3',5,5'- тетраметилбензидиндегидрохлорид. Жидкость бесцветная.	1 флакон 1,5 мл
Раствор серной кислоты 0,75 моль/л. Жидкость бесцветная.	1 флакон 25,0 мл

Комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами. Все компоненты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению.

полнительно бор может быть мплектован	Крышка к полистироловым 96-луночным планшетах или	1 шт.
	защитная пленка для ИФА планшетов	2 шт.
	Одноразовые наконечники	16 шт.
	Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт.
	Полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или пластиковая скрепка	1 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Диагностическая чувствительность

диагностическая чувствительность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HAV-G-РЕКОМБ» оценивалась при тестировании образцов рабочей панели предприятия, содержащих антитела класса G к вирусу гепатита А – 100 %.

Специфичность

специфичность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HAV-G-РЕКОМБ» оценивалась при тестировании образцов рабочей панели предприятия, не содержащих антитела класса G к вирусу гепатита А – 100 %.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.

Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий.

Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.

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

Растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.

Нельзя проводить ферментную реакцию в присутствии реактивных паров (кислота, аммиак, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на активность конъюгатов.

Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение реактивов одноразового использования.

Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многократные ванночки для автоматических анализаторов необходимо после работы ополоснуть водой дистиллированной. Затем промыть 70 % раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной.

Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).

Ферментная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта биологических предметов с растворами конъюгатов или субстрата.

Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.

Промывка лунок - важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью ополаскиваются, не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.

Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.

Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.

Нельзя изменять процедуру проведения анализа.

Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.

Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении К+, К-, были титрованы и определены нереактивными в отношении поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антигена р24 ВИЧ-1 и антител к вирусу гепатита С и ВИЧ-1,2.

В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, применять косметику.

Нельзя пипетировать ртом.

При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами.

При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы. При распылении немедленно дезактивировать поверхность 3 % раствором хлорамина Б.

Необходимо избегать контакта субстратного буфера, хромогена, стоп-реагента с кожей и глазами.

После проведения ферментной реакции необходимо нейтрализовать и/или инактивировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы, сбрасывая в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к пипеткам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обезврежены погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации – не менее 1 ч. Также возможно применение другого разрешенного к применению дез. средства. Твердые отходы следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °C под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует инактивировать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 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) при температуре от 124 до 128 °C. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.



Xi Некоторые реагенты содержат 0,05 % проклин 300. Проклин 300 0,05% - раздражающее вещество. Может вызвать сенсибилизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

Вода дистиллированная.

Автоматические или полуавтоматические, регулируемые или предварительно калибруемые одноканальные или многоканальные пипетки с изменяемым объемом для жидкостей.

Одноразовые наконечники к пипеткам.

Инкубатор микропланшетный (37,0 ± 0,5) °C.

Автоматический микропланшетный вошер.

Калиброванные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.

Микропланшетный ридер с возможностью измерения оптической плотности (ОП) при длинах волн 450 нм и 620-680 нм.

БОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой венопункции. Для анализа использовать неразведенную сыворотку или плазму. Содержащие видимые частицы следует осветлить центрифугированием, т.к. частицы и агрегаты могут привести к ложно-положительным результатам. Образцы можно при температуре от 2 до 8 °C не более 3 сут, допустимо хранение в замороженном при температуре минус 20 °C в течение 3 мес. Во избежание осаждения фибрина следует быстро размораживать в течение нескольких минут при температуре (39,0 ± на водяной бане. Нельзя использовать сыворотку (плазму), замороженную и тленную более одного раза. Для исключения ложных результатов нельзя подвергать образцы термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, исключающих бактериальный рост. Образцы с выраженным бактериальным ростом, сепсисом и гиперлипидемией могут дать неправильный результат.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты, готовые к применению:

контрольный отрицательный образец;

контрольный положительный образец;

раствор для разведения конъюгата;

фиксирующий раствор для разведения исследуемых образцов;

реагент.

Условия, требующие предварительного приготовления

Иммуносорбент. Каждый планшет, состоящий из 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Открыть фольгированный пакет и вынуть планшет. Взять необходимое количество. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в фольгированный пакет (не перепечатывать!) и тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с сорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край фольгированного пакета свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 6 мес. при температуре от 2 до 8 °C.

Промывочный раствор (ПР). Содержимое флакона с концентратом (х 25) развести в 25 мл воды. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут. при температуре от 18 до 24 °C. Рабочий промывочный раствор стабилен в течение 6 мес. при температуре от 2 до 8 °C.

Раствор конъюгата. Необходимое количество РРК перенести в чистый флакон, соответствующее количество концентрата конъюгата (см. табл. 2) и осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Хранить 2 часов в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °C.

Субстратная смесь (СС). Развести необходимый объем СБ соответствующим объемом ТМБ (см. табл. 2). Тщательно перемешать до полного растворения. Субстратную смесь готовить непосредственно перед использованием. Хранить не более 10 часов в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °C.

Субстратная смесь должна быть бесцветной!

ие вскрытия флаконов и пакета с иммуносорбентом, оставшиеся не использованными
ты: иммуносорбент - хранить не более 6 мес., конъюгат (концентрат х 11), контрольный
ительный образец (K+), контрольный отрицательный образец (K-), РРК, БР,
нцентрат х 25), СБ, ТМБ, Стоп-реагент - хранить во флаконах, закрытых винтовыми
ами, на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

ОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

мечание: Перед использованием все реагенты набора выдержать в течение 30 мин
ипературе от 18 до 24 °С.

бходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых стрипов или
та представлены в таблице 2.

Таблица 2

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистилли- рованная (мл)	Конъюгат (конц. х 11) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
1	4	96	0,1	1,0	1,0	0,05
2	8	192	0,2	2,0	2,0	0,10
3	12	288	0,3	3,0	3,0	0,15
4	16	384	0,4	4,0	4,0	0,20
5	20	480	0,5	5,0	5,0	0,25
6	24	576	0,6	6,0	6,0	0,30
7	28	672	0,7	7,0	7,0	0,35
8	32	768	0,8	8,0	8,0	0,40
9	36	864	0,9	9,0	9,0	0,45
10	40	960	1,0	10,0	10,0	0,50
11	44	1056	1,1	11,0	11,0	0,55
12	48	1152	1,2	12,0	13,0	0,65

Контрольные образцы рекомендуется вносить по следующей схеме в зависимости от
ства используемых стрипов:

- 1 стрип - 1 лунка - 100 мкл K+, 1 лунка 100 мкл K-;
- 2 стрипа - 1 лунка 100 мкл K+, 2 лунки по 100 мкл K-;
- 3 стрипа и более - 2 лунки по 100 мкл K+, 2 лунки по 100 мкл K-.

Например, при постановке ИФА на двух стрипах: в 1 лунку стрипа внести по 100 мкл
2 лунки – по 100 мкл K-. В остальные лунки внести по 90 мкл БР и по 10 мкл
уемых образцов (образцы в лунках разведены в 10 раз). Содержимое лунок тщательно
шать осторожным пипетированием, при этом фиолетово-синий цвет должен измениться
убовато-зеленый. Если цвет не изменился, то образец для анализа не годится.

Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 30 мин при
атуре (37,0 ± 0,5) °С.

Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дез. раствором, с помощью промывочного
ства, планшет промыть 6 раз рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 380 мкл в
ыдерживая 40 сек. и удаляя промывочный раствор в емкость с дез. раствором.
ндуется использование автоматического микропланшетного вошера.

во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 30 мин при температуре 37,5) °С.

Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дез. раствором, с помощью промывочного раствора, планшет промыть 6 раз рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный аспиратор, как указано в п 3.

Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл СС и планшет выдержать в течение 20 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 50 мкл стоп-реагента, содержимое тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета и через 3-4 минуты провести учет результатов при основном фильтре 450 нм и референс-фильтре 620-680 нм, используя ридер. Допустим учет результатов при одной длине волны 450 нм.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

При оценке учитывать, если значение оптической плотности (ОП) в лунке с К+ - не менее 1,0, а в лунке с К- - не более 0,2*.

Положительным считать образец со значением ОП, равным или превышающим ОП критическое (ОП крит.).

Отрицательным считать образец со значением ОП менее ОП крит.

Если ОП крит. следует рассчитать по формуле:

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

A - коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов постановки на предприятии-изготовителе.

Определение титра антител в выявленных положительных образцах

Для определения титра антител в выявленных положительных образцах необходимо приготовить двукратные разведения этих образцов по следующей схеме:

Внести по 100 мкл К- в лунки А1, В1, 100 мкл К+ в лунку С1. Внести БР в лунки 2-12 ряда А по 100 мкл, в лунки 2-12 рядов В-Н по 100 мкл. Затем внести по 20 мкл исследуемых образцов в лунки 1-го ряда А, содержимое лунок тщательно перемешать осторожным пипетированием. Дозатором точным перенести последовательно по 100 мкл разведенных образцов из лунок ряда А в лунки следующих рядов (из лунок ряда А в лунки ряда В, лунок ряда В в лунки ряда С и т.д.), тщательно перемешивая. Из лунок последнего ряда Н удалить по 100 мкл разведенных образцов в емкость для сбора инфицированного материала.

Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать 30 мин при температуре 37,5) °С.

Дальнейший ход анализа выполнять в соответствии с п.п. 3-7. Титром считать максимальное значение образца со значением ОП, превышающим ОП критическое (ОП крит.).

Отрицательные значения ОП К- и исследуемых образцов (со знаком «-») при расчете титра и анализе результатов считать равными нулю.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности - 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Хранение - в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование - при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование от 9 до 10 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекомендации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» Россия, 603093, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Производитель
	Каталожный номер
	Количество определений
	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

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

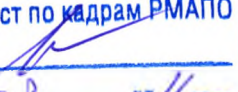
В.К. Пименов

ПОДПИСАНО
кафедрой клинической
лабораторной диагностики
У ДПО «РМАПО Росздорава»
д. профессор



Подпись 

Удостоверяю:
Специалист по кадрам РМАПО

Подпись 

2011 года

В.В. Долгов

Министр
Иванов
Иванов
Иванов
Иванов
Иванов

