

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор  
ЗАО "ЭКОлаб"



Т. Ю. Гашенко

2021 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В»  
«ИФА-HBsAg»

Комплекты №-№ 2/1, 2/2, 2/2а

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBsAg» предназначен для качественного выявления и подтверждения HBs-антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови человека, а также препаратах, приготовленных из крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов открытого типа.

Функциональное назначение: скрининг, подтверждение и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

### Показания и противопоказания к применению изделия

Основные показания к применению: профилактическое обследование доноров, лиц из групп риска, при подготовке к госпитализации, оперативному вмешательству, беременности, диагностика острой фазы гепатита В, диагностика хронического гепатита В, оценка лечения гепатита В.

Противопоказаний не существует.

### Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

### Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

### Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Гепатит В (HBV) — антропонозное вирусное заболевание, вызываемое возбудителем с выраженными гепатотропными свойствами — вирус гепатита В из семейства гепаднавирусов.

Основной резервуар и источник вирус гепатита В - вирусоносители, больные острыми и хроническими формами гепатита В (ВГВ).

Основной механизм передачи - парентальный. Пути передачи: половой, перинатальный, гемотрансфузионный, при медицинских процедурах. К группе риска относятся реципиенты донорской крови и ее препаратов; больные, нуждающиеся в проведении хронического гемодиализа; лица, подвергающиеся многократным лечебно-диагностическим и инструментальным процедурам с повреждением кожи и слизистых оболочек; а также медицинский персонал, имеющий профессиональный контакт с кровью больных, лица, практикующие внутривенное введение психотропных препаратов и ведущие беспорядочный половой образ жизни.

Основным маркером ВГВ-инфекции является поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg ВГВ). В зависимости от используемого метода анализа обнаружение HBsAg в сыворотке крови колеблется от нескольких дней до 4-6 недель.

Циркуляция HBsAg в крови более 6 мес свидетельствует о возможности развития хронической формы заболевания.

Своевременная диагностика гепатита и вовремя начатое лечение позволяют избежать развития заболевания, возникновения осложнений, перехода болезни в хроническую форму.

### СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

| Иммуносорбент                                                                    | моноклональные антитела к HBsAg, сорбированные в лунках разборных полистироловых планшетов с плоским дном для ИФА; допускается раздельная упаковка стрипов (по 4 стрипа в пакете)                                                                                                    | Компл. № 2/1      | Компл. № 2/2      | Компл. № 2/2а   |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
|                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2 шт.             | 5 шт.             | 1 шт.           |
| Контрольный положительный образец (K <sup>+</sup> )                              | инактивированный, содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации не менее 5,0 МЕ/мл; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                         | 1 фл. (2,0 мл)    | 1 фл. (4,0 мл)    | 1 фл. (1,0 мл)  |
| Контрольный слабоположительный образец (K <sup>+</sup> слаб)                     | инактивированный; содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,1 МЕ/мл; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость с желтым оттенком различной интенсивности или аморфная масса белого цвета с желтым оттенком, после растворения – опалесцирующая жидкость слабо-желтого цвета | 2 фл. (по 1,0 мл) | 3 фл. (по 1,0 мл) | 1 фл. (1,0 мл)  |
| Контрольный отрицательный образец (K <sup>-</sup> )                              | инактивированный; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                                                                                          | 1 фл. (2,0 мл)    | 2 фл. (по 4,0 мл) | 1 фл. (1,5 мл)  |
| Конъюгат                                                                         | моноклональные мышиные антитела к HBsAg, меченные пероксидазой хрена; прозрачная жидкость красного цвета                                                                                                                                                                             | 2 фл. (по 6,5 мл) | 5 фл. (6,5 мл)    | 1 фл. (10,0 мл) |
| 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)] | слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °C в течение 30 мин                                                                                                                            | 2 фл. (по 40 мл)  | 2 фл. (по 100 мл) | 1 фл. (40 мл)   |
| Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР)                            | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 2 фл. (по 20 мл)  | 5 фл. (по 20 мл)  | 1 фл. (20 мл)   |
| Хромоген (ТМБ)                                                                   | раствор тетраметилбензидина; прозрачная розового цвета жидкость                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл. (2,2 мл)    | 1 фл. (5,5 мл)    | 1 фл. (1,5 мл)  |
| Стоп-реагент                                                                     | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл. (25 мл)     | 1 фл. (70 мл)     | 1 фл. (25 мл)   |
| Одноразовые наконечники для автоматических пипеток                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 16 шт.            | 16 шт.            | 16 шт.          |

#### Примечания.

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т(x25), ЦБР, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов или их смешение.

3. Допускается использование ТМБ из разных серий набора.

4. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор может быть дополнительно укомплектован:

- вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),
- клейкой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

### ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Комплект № 2/1 - для скринингового исследования при постановке непрямого неконкурентного ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора открытого типа на целом планшете; рассчитан на исследование 192 образцов, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 192 (96x2) определений на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа.

Комплект № 2/2 для скринингового исследования при постановке непрямого неконкурентного ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора, рассчитан на исследование 480 образцов, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 480 (96x5) определений на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа.

Комплект № 2/2а для скринингового исследования при постановке непрямого неконкурентного ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора открытого типа, рассчитан на исследование 96 образцов, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа, возможна 3-кратная постановка на автоматических анализаторах (разборность 32x3).

Все комплекты набора реагентов позволяют проводить отдельные исследования с использованием необходимого количества стрипов:

| Кол-во стрипов              | 1   | 2    | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-----------------------------|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Кол-во контрольных образцов | 2   | 2    | 2     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     |
| Кол-во иссл. образцов       | 1-6 | 7-14 | 15-22 | 23-29 | 30-37 | 38-45 | 46-53 | 54-61 | 62-69 | 70-77 | 78-85 | 86-93 |

### ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемых образцах HBsAg он взаимодействует с антителами, иммобилизованными на поверхности лунок иммуносорбента. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело" связывается затем с конъюгатом и выявляется в цветной реакции с хромогеном.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация HBsAg) – 0,1; 0,05; 0,01 МЕ/мл (нг/мл) (в зависимости от выбранного протокола инкубации).

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия. (СОП<sub>HBsAg</sub>-072), как процентное содержание образцов, определенных набором как

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП<sub>HBsAg</sub>-072) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Коэффициент вариации не более 8%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,77% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,87% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,57 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,82 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность, оцененная на случайной выборке 10000 доноров, составила 99,97% - 100%

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций в ходе клинических испытаний набора реагентов «ИФА-HBsAg» не выявлено.

Интерферирующие вещества: гемоглобин в концентрации до 200 г/л, билирубин - до 120 мкмоль/л; триглицериды – до 11 ммоль/л не оказывают влияния на результат анализа.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003), в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

РРК, РРО, РПА (при наличии) содержат мертиолят в безопасной концентрации.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится к классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

### ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и 6 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Для исследования образцов иммуноглобулинов, альбумина, криопреципитата, интерферона исходные растворы развести ФСБ-Т в соотношении 1:10, лиофильно высушенные препараты крови предварительно восстановить согласно инструкции по их применению, затем развести ФСБ-Т в соотношении 1:10 и вносить согласно инструкции по применению данного набора.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин

### СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Достоверность результатов анализа зависит от строгого соблюдения следующих правил:

- Используйте реагенты только данной серии набора (кроме ФСБ-Т(х25), ЦБР, ТМБ, стоп-реагента).
- Не используйте набор с истекшим сроком годности.
- В работе применяйте воду очищенную, соответствующую ФС.2.2.0020.18.
- Не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгата.
- Стекланную посуду тщательно мойте и ополаскивайте водой очищенной или используйте одноразовую посуду.
- Аккуратно разводите реагенты, избегая любого загрязнения.
- Ферментативная реакция очень чувствительна к присутствию ионов металла. Поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и растворами субстратов.
- Используйте для внесения каждой пробы сменный одноразовый наконечник.
- Никогда не используйте одну и ту же емкость, для приготовления конъюгата и раствора ТМБ.
- Проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы.

#### Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцати-канальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин,

Термостат на 37 °С,

Термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и поддерживающий температуру в диапазоне от 37 до 44 °С

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Анализатор иммуноферментный автоматический.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

#### Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

За 10 мин до проведения ИФА во флакон с лиофилизированным  $K^{+}$  слаб. добавить 1,0 мл воды очищенной и аккуратно перемешать.

Разведенный  $K^{+}$  слаб хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С.

#### **Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)**

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При использовании одного планшета 40 мл ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

| Число стрипов      | 1     | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     |
|--------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ФСБ-Т(х25), мл     | 3     | 7      | 10     | 13     | 17     | 20     | 23     | 27     | 30     | 33     | 37     |
| Вода очищенная, мл | до 75 | до 175 | до 250 | до 325 | до 425 | до 500 | до 575 | до 675 | до 750 | до 825 | до 925 |

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

#### **Приготовление раствора хромогена (ТМБ)**

Готовить перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света.

При использовании одного планшета 1,0 мл ТМБ внести во флакон с 20 мл ЦБР, тщательно перемешать.

При «ручной» дробной постановке использовать соотношения объемов ТМБ и ЦБР, указанные в табл. 3 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 2

| Компонент | Необходимый объем компонента в зависимости от числа используемых стрипов |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
|           | 1                                                                        | 2   | 3    | 4   | 5    | 6   | 7    | 8   | 9    | 10  | 11   | 12  |
| ТМБ, мл   | 0,05                                                                     | 0,1 | 0,15 | 0,2 | 0,25 | 0,3 | 0,35 | 0,4 | 0,45 | 0,5 | 0,55 | 0,6 |
| ЦБР, мл   | 1                                                                        | 2   | 3    | 4   | 5    | 6   | 7    | 8   | 9    | 10  | 11   | 12  |

Стабильность раствора хромогена при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч. в защищенном от света месте.

#### **Приготовление остальных реагентов**

Иммуносорбент,  $K^{+}$ ,  $K^{-}$ , конъюгат, жидкий  $K^{+}$  слаб, стоп-реагент – готовы к применению.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты хранить в плотно закрытой упаковке при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

#### **Проведение ИФА**

**Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.**

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

2. . Внести по 100 мкл контрольных образцов. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл исследуемых образцов.

Во все лунки внести по 50 мкл раствора конъюгата. Содержимое лунок перемешать, аккуратно постукивая по краю планшета.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой.

Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °С на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №2 - 2 ч. при 44 °С в термостате, либо

Протокол №3 - 2 ч. при 37 °С на шейкере (700 об/мин).

Допускается использовать также следующие режимы инкубации:

при 37 °С на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №5 - 2 ч при 37 °С в термостате, однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл (МЕ/мл) до 0,1 нг/мл (МЕ/мл)).

Допускается использовать следующий режим инкубации:

Протокол №6 - 18 ч при 37 °С на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл (МЕ/мл).)

*Примечание: При отсутствии у шейкера режима 18-ти часового встряхивания, установить максимально возможное время шейкирования, оставшееся время, после остановки, планшет инкубировать в нем же при температуре 37 °С.*

4. По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором в режиме «overflow» или 7 раз промывочным раствором и 1 раз водой дистиллированной при отсутствии режима «overflow», добавляя в каждую лунку не менее 350-370 мкл жидкости. Время между заполнением и аспирацией (замачивание) должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтрованной бумаге.

**Рекомендуется использовать:**

- режим отмывки с переполнением – «overflow» - с внесением в лунки по 600-700 мкл рабочего промывочного раствора;

- поперечную аспирацию раствора из лунок – режим «crosswise».

Необходимо следить за полной аспирацией после каждого цикла отмывки (остаточный объем в лунках не должен превышать 10 мкл).

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 мин.

5. Во все лунки внести по 100 мкл раствора хромогена, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 25 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте (планшет не закрывать) или в термостате при температуре 37 °С в течение 20 мин. (планшет закрыть чистой защитной пленкой).

6. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился раствор хромогена) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и приступить к регистрации результатов (ОП реакционной смеси после внесения стоп-реагента стабильна не более 40 мин).

#### **Регистрация и учет результатов**

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитывать только при выполнении следующих условий:

среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с  $K^+$  не менее, чем в 4 раза превышает среднее значение ОП в лунках с  $K^-$ ;

среднее значение ОП в лунках с  $K^-$  ( $ОП_{K^-cp}$ ) не более 0,150;

среднее значение ОП в лунках с  $K^+_{сл}$  больше критической величины оптической плотности ( $ОП_{крит}$ ), определяемой по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{K^-cp} + 0,04.$$

В противном случае исследование необходимо повторить.

Исследуемый образец считать положительным, если ОП в лунке с ним больше или равна  $ОП_{крит}$ .

Исследуемый образец считать отрицательным, если ОП в лунке с ним меньше  $ОП_{крит}$ .

Для интерпретации результатов исследования сывороток можно использовать коэффициент позитивности (КП), который рассчитывается по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{иссл.сыв.}}{ОП_{крит.}}$$

Если  $КП \geq 1,0$ , исследуемый образец расценивать как положительный. Результат анализа считать отрицательным при  $КП < 1,0$ .

Все положительные при первичном обследовании образцы должны быть исследованы с помощью подтверждающего теста (рекомендуется использование комплекта № 3 набора «ИФА-НВsAg»).

### ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

Таблица 3

| Количество<br>стрипов                    | ФСБ-Т               |                           | Раствор хромогена |             |
|------------------------------------------|---------------------|---------------------------|-------------------|-------------|
|                                          | ФСБ-Т (x25)<br>(мл) | Вода дис-<br>тил.<br>(мл) | ЦБР<br>(мл)       | ТМБ<br>(мл) |
| <b>4</b><br>(только для комплекта 2/2a)  | 16                  | 384                       | 6,4               | 0,32        |
| <b>8</b><br>(только для комплекта 2/2a)  | 32                  | 768                       | 12,8              | 0,64        |
| <b>12</b><br>(только для комплекта 2/2a) | 40                  | 960                       | 19,2              | 0,96        |

**Спектрофотометрический контроль стадий ИФА при постановке на автоматических анализаторах.**

Контроль внесения исследуемых образцов и конъюгата проводить при длине волны 450 нм. При этом ОП>0,1.

Контроль внесения рабочего раствора хромогена проводить при длине волны 450 нм. При этом ОП>0,05.

### СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

### ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

#### Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

#### Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 20 сут. Замораживание не допускается.

### УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

### ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания НВs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-НВsAg» соответствует ТУ 9388-072-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «ИФА-HBsAg», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, факс (8-49643)-3-30-85, 8-800-333-33-47.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.

протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по науке

С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«17» 12 2021 г.

П.К. Варнавичус



**КРАТКАЯ СХЕМА ИФА**  
**Набор реагентов «ИФА-НВsAg»**  
**Комплекты № 2/1, 2/2, 2/2а**

| <b>Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Внести</b>                                                            | в лунку А1 – 100 мкл К <sup>+</sup> ; в лунку В1 – 100 мкл К <sup>+</sup> <sub>сл</sub> ; в лунки С1, D1, Е1 - по 100 мкл К <sup>-</sup> ; в остальные лунки планшета - по 100 мкл исследуемых образцов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Внести</b>                                                            | во все лунки по 50 мкл рабочего разведения конъюгата                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Инкубация</b>                                                         | <p>Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °С на шейкере (700 об/мин), либо</p> <p>Протокол №2 - 2 ч. при 44 °С в термостате, либо</p> <p>Протокол №3 - 2 ч. при 37 °С на шейкере (700 об/мин).</p> <p>Допускается использовать также следующие режимы инкубации:</p> <p>Протокол №4 - 1 ч 30 мин при 37 °С на шейкере (700 об/мин), либо</p> <p>Протокол №5 - 2 ч при 37 °С в термостате, однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл до 0,1 нг/мл).</p> <p>Допускается использовать следующий режим инкубации:</p> <p>Протокол №6 - 18 ч при 37 °С на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл.)</p> |
| <b>Промыть</b>                                                           | <p>в режиме "Overflow" – 5 раз ФСБ-Т</p> <p>без режима "Overflow" – 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Внести</b>                                                            | по 100 мкл раствора хромогена в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Инкубация</b>                                                         | 25 мин при 18-25 °С, или 20 мин при 37 °С в термостате                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Внести</b>                                                            | по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Измерить</b>                                                          | ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

ПРОШИТО  
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

«17» 12 2021 год

Ген. Директор  
ООО «ВЫМЧЕЛ-МЕДЦЕНТР»  
Варнавичус П.К.



Пронумеровано, пронумеровано  
и скреплено печатью

10 лист 06

Ген. директор ЗАО «ЭКОлаб»  
Гашенко Т.Ю.  
«17» 12 2021 г.





Т. Ю. Гашенко  
2021 г.

**ИНСТРУКЦИЯ**  
**по применению набора реагентов**  
**«Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В»**  
**«ИФА-HBsAg»**

**Комплекты № 1/3, 2/3**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBsAg» предназначен для качественного выявления и подтверждения HBs-антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови человека, а также препаратах, приготовленных из крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов открытого типа.

Функциональное назначение: скрининг, подтверждение и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

**Показания и противопоказания к применению изделия**

Основные показания к применению: профилактическое обследование доноров, лиц из групп риска, при подготовке к госпитализации, оперативному вмешательству, беременности, диагностика острой фазы гепатита В, диагностика хронического гепатита В, оценка лечения гепатита В.

Противопоказаний не существует.

**Потенциальные потребители изделия**

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

**Профессиональный уровень потенциальных пользователей**

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

**Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности**

Гепатит В (HBV) — антропонозное вирусное заболевание, вызываемое возбудителем с выраженными гепатотропными свойствами — вирус гепатита В из семейства гепаднавирусов.

Основной резервуар и источник вируса гепатита В - вирусоносители, больные острыми и хроническими формами гепатита В (ВГВ).

Основной механизм передачи - парентальный. Пути передачи: половой, перинатальный, гемотрансфузионный, при медицинских процедурах. К группе риска относятся реципиенты донорской крови и ее препаратов; больные, нуждающиеся в проведении хронического гемодиализа; лица, подвергающиеся многократным лечебно-диагностическим и инструментальным процедурам с повреждением кожи и слизистых оболочек; а также медицинский персонал, имеющий профессиональный контакт с кровью больных, лица, практикующие внутривенное введение психотропных препаратов и ведущие беспорядочный половой образ жизни.

Основным маркером ВГВ-инфекции является поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg ВГВ). В зависимости от используемого метода анализа обнаружение HBsAg в сыворотке крови колеблется от нескольких дней до 4-6 недель.

Циркуляция HBsAg в крови более 6 мес свидетельствует о возможности развития хронической формы заболевания.

Своевременная диагностика гепатита и вовремя начатое лечение позволяют избежать развития заболевания, возникновения осложнений, перехода болезни в хроническую форму.

### СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

|                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Комплект № 1/3     | Комплект № 2/3     |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|
| Иммуносорбент                                                                    | моноклональные антитела к HBsAg, сорбированные в лунках полистироловых планшетов с плоским дном для ИФА; допускается раздельная упаковка -стрипов (по 4 стрипа в пакете)                                                                                                             | 1 шт.              | 1 шт.              |
| Контрольный положительный образец (K <sup>+</sup> )                              | инактивированный, содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации не менее 5,0 МЕ/мл; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                         | 1 фл.<br>(1,5 мл)  | 1 фл.<br>(1,5 мл)  |
| Контрольный слабоположительный образец (K <sup>+</sup> <sub>слаб</sub> )         | инактивированный; содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,1 МЕ/мл; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость с желтым оттенком различной интенсивности или аморфная масса белого цвета с желтым оттенком, после растворения – опалесцирующая жидкость слабо-желтого цвета | 1 фл.<br>(1,0 мл)  | 1 фл.<br>(1,0 мл)  |
| Контрольный отрицательный образец (K <sup>-</sup> )                              | инактивированный; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                                                                                          | 1 фл.<br>(2,5 мл)  | 1 фл.<br>(2,5 мл)  |
| Конъюгат                                                                         | моноклональные мышиные антитела к HBsAg, меченные пероксидазой хрена; прозрачная жидкость красного цвета                                                                                                                                                                             | 1 фл.<br>5,0 мл    | 1 фл.<br>10,0мл    |
| Раствор для разведения конъюгата (РРК)                                           | опалесцирующая жидкость, бесцветная или с желтоватым оттенком                                                                                                                                                                                                                        | 1 фл.<br>5,0 мл    | -                  |
| 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)] | слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.                                                                                                                           | 1 фл.<br>(40 мл)   | 1 фл.<br>(40 мл)   |
| Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР)                            | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>14,0 мл   | 1 фл.<br>14,0 мл   |
| Хромоген (ТМБ)                                                                   | раствор тетраметилбензидина; прозрачная жидкость розового цвета                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>(1,0 мл)  | 1 фл.<br>(1,0 мл)  |
| Стоп-реагент                                                                     | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>(12,5 мл) | 1 фл.<br>(12,5 мл) |
| Раствор подтверждающего агента (РПА)                                             | прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета                                                                                                                                                                                                                         | 1 фл.<br>1,5 мл    | 1 фл.<br>1,5 мл    |
| Раствор для разведения образцов (РРО)                                            | прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета                                                                                                                                                                                                                           | 1 фл.<br>8,0 мл    | 1 фл.<br>8,0 мл    |
| Одноразовые наконечники для автоматических пипеток                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 16 шт.             | 16 шт.             |

### Примечания.

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т(х25), ЦБР, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов или их смешение.

3. Допускается использование ТМБ из разных серий набора.

4. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор может быть дополнительно укомплектован принадлежностями:

- вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),

- клейкой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

### **ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Комплекты № 1/3, №2/3 – для подтверждающего исследования в неконкурентном и конкурентном ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора, рассчитаны на исследование 48 образцов, включая контрольные. Каждый образец исследуется параллельно в неконкурентном и конкурентном ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора.

Рекомендуется следующая схема внесения контрольных и исследуемых образцов:

| Кол-во стрипов                         | 1   | 2   | 3    | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|----------------------------------------|-----|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Кол-во контрольных образцов (в дублях) | 2×2 | 2×2 | 2×2  | 3×2   | 3×2   | 3×2   | 3×2   | 3×2   | 3×2   | 3×2   | 3×2   | 3×2   |
| Кол-во исследуемых образцов            | 1-2 | 3-6 | 7-10 | 11-13 | 14-17 | 14-21 | 22-25 | 26-29 | 30-33 | 34-37 | 38-41 | 42-45 |

### **ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ**

В основе метода подтверждения лежит реакция нейтрализации HBsAg, предварительно выявленного в образце, поликлональными антителами, содержащимися в РПА, что приводит к уменьшению оптической плотности в 2 и более раз по сравнению с контрольной лункой - РРО.

### **АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация HBsAg) – 0,1; 0,05; 0,01 МЕ/мл (нг/мл) (в зависимости от выбранного протокола инкубации).

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, (СОП<sub>HBsAg</sub>-072), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП<sub>HBsAg</sub>-072) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Коэффициент вариации не более 8%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,77% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,87% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,57 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,82 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность, оцененная на случайной выборке 10000 доноров, составила 99,97% - 100%.

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций в ходе клинических испытаний набора реагентов «ИФА-HBsAg» не выявлено.

Интерферирующие вещества: гемоглобин в концентрации до 200 г/л, билирубин - до 120 мкмоль/л; триглицериды – до 11 ммоль/л не оказывают влияния на результат анализа.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003), в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

РРК, РРО, РПА (при наличии) содержат мертиолят в безопасной концентрации.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

### ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка (плазма) крови человека объемом не менее 100 мкл.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и 6 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное

морозивание-разморозивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Для исследования образцов иммуноглобулинов, альбумина, криопреципитата, интерферона исходные растворы развести ФСБ-Т в соотношении 1:10, лиофильно высушенные препараты крови предварительно восстановить согласно инструкции по их применению, затем развести ФСБ-Т в соотношении 1:10 и вносить согласно инструкции по применению данного набора.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин

## **СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ**

Достоверность результатов анализа зависит от строгого соблюдения следующих правил:

- Используйте реагенты только данной серии набора (кроме ФСБ-Т(х25), ЦБР, ТМБ, стоп-реагента).
- Не используйте набор с истекшим сроком годности.
- В работе применяйте воду очищенную, соответствующую ФС.2.2.0020.18.
- Не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгата.
- Стеклянную посуду тщательно мойте и ополаскивайте водой очищенной или используйте одноразовую посуду.
- Аккуратно разводите реагенты, избегая любого загрязнения.
- Ферментативная реакция очень чувствительна к присутствию ионов металла. Поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и растворами субстратов.
- Используйте для внесения каждой пробы сменный одноразовый наконечник.
- Никогда не используйте одну и ту же емкость, для приготовления конъюгата и раствора ТМБ.
- Проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы.

### **Оборудование и материалы**

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин,

Термостат на 37 °С,

Термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и поддерживающий температуру в диапазоне от 37 до 44 °С

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Анализатор иммуноферментный автоматический.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

### **Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА**

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

### **Приготовление рабочих разведений контрольных образцов**

За 10 мин до проведения ИФА во флакон с лиофилизированным  $K^+$  слаб. добавить 1,0 мл воды очищенной и аккуратно перемешать.

Разведенный  $K^+$  слаб. хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С.

**Приготовление рабочего разведения конъюгата (для Комплекта №1/3)**

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

Конъюгат развести РРК в соотношении 1:1.

При одномоментном использовании комплекта объединить содержимое флаконов с конъюгатом и с РРК, тщательно перемешать.

При «ручной» дробной постановке использовать соотношения объемов конъюгата и РРК, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

| Число стрипов | 2    | 4    | - 6  | 8    | 10   |
|---------------|------|------|------|------|------|
| Конъюгат, мл  | 0,45 | 0,85 | 1,25 | 1,65 | 2,05 |
| РРК, мл       | 0,45 | 0,85 | 1,25 | 1,65 | 2,05 |

Стабильность рабочего разведения конъюгата при температуре от 2 до 8 °С не более 30 сут, при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч. в защищенном от света месте.

**Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)**

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При использовании одного планшета 40 мл ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 2 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 2

| Число стрипов      | 2      | 4      | 6      | 8      | 10     |
|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ФСБ-Т(х25), мл     | 7      | 13     | 20     | 27     | 33     |
| Вода очищенная, мл | до 175 | до 325 | до 500 | до 675 | до 825 |

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

**Приготовление раствора хромогена (ТМБ)**

Готовить перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света.

При постановке ИФА на всем планшете 0,6 мл ТМБ внести в 12 мл ЦБР. Тщательно перемешать. При дробной постановке ТМБ развести ЦБР, используя объемы реагентов, указанные в табл. 3 для заданного числа стрипов.

Таблица 3

| Число стрипов | 2   | 4   | 6   | 8   | 10  |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| ТМБ, мкл      | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 |
| ЦБР, мл       | 2   | 4   | 6   | 8   | 10  |

Стабильность раствора хромогена при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч. в защищенном от света месте.

**Приготовление остальных реагентов**

Иммуносорбент,  $K^+$ ,  $K^-$ , жидкий  $K^+$  слаб, конъюгат (комплекта №2/3), стоп-реагент, РРО, РПА – готовы к применению.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты хранить в плотно закрытой упаковке при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

**Проведение ИФА**

**Внимание!** Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно

поставить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°C до истечения срока годности набора.

2. Во все лунки стрипов для неконкурентного ИФА внести по 20 мкл РРО, а в лунки стрипов для конкурентного ИФА – по 20 мкл РПА.

Внести по 100 мкл контрольных образцов, в остальные лунки – по 100 мкл исследуемых образцов (каждый образец вносится параллельно в лунки стрипов для неконкурентного и конкурентного ИФА).

Во все лунки всех стрипов внести по 50 мкл конъюгата. Содержимое лунок перемешать, аккуратно постукивая по краю планшета.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой.

Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °C на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №2 - 2 ч. при 44 °C в термостате, либо

Протокол №3 - 2 ч. при 37 °C на шейкере (700 об/мин).

Допускается использовать также следующие режимы инкубации:

Протокол №4 - 1 ч 30 мин при 37 °C на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №5 - 2 ч при 37 °C в термостате,

однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл (МЕ/мл) до 0,1 нг/мл (МЕ/мл)).

Допускается использовать следующий режим инкубации:

Протокол №6 - 18 ч при 37 °C на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл (МЕ/мл)).

*Примечание: При отсутствии у шейкера режима 18-ти часового встряхивания, установить максимально возможное время шейкирования, оставшееся время, после остановки, планшет инкубировать в нем же при температуре 37 °C.*

4. По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором в режиме «overflow» или 7 раз промывочным раствором и 1 раз водой дистиллированной при отсутствии режима «overflow», добавляя в каждую лунку не менее 350-370 мкл жидкости. Время между заполнением и аспирацией (замачивание) должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтрованной бумаге.

**Рекомендуется использовать:**

- режим отмывки с переполнением – «overflow» - с внесением в лунки по 600-700 мкл рабочего промывочного раствора;

- поперечную аспирацию раствора из лунок – режим «crosswise».

Необходимо следить за полной аспирацией после каждого цикла отмывки (остаточный объем в лунках не должен превышать 10 мкл).

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 мин.

5. Во все лунки внести по 100 мкл раствора хромогена, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 25 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте (планшет не закрывать) или в термостате при температуре 37 °C в течение 20 мин. (планшет закрыть чистой защитной пленкой).

6. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился раствор хромогена) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и приступить к регистрации результатов (ОП реакционной смеси после внесения стоп-реагента стабильна не более 40 мин).

**Регистрация и учет результатов**

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Вычислить ОП<sub>крит.</sub> по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{K_{cp}^-} + 0,04,$$

$$\text{где } ОП_{K_{cp}^-} = \frac{ОП_{K_{неконкур.ИФА}^-} + ОП_{K_{конкур.ИФА}^-}}{2}$$

Далее рассчитывают процент подавления (ПП) по формуле:

$$ПП = \frac{ОП_{неконкур.ИФА} - ОП_{конкур.ИФА}}{ОП_{неконкур.ИФА}} \times 100\%$$

Результаты ИФА учитывают при соблюдении следующих условий:

ОП( $K_{неконкур.ИФА}^-$ ) и ОП( $K_{конкур.ИФА}^-$ ) не более 0,15; -

среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с  $K^+$  не менее, чем в 4 раза превышает среднее значение ОП в лунках с  $K^-$ ;

ОП( $K_{слаб.неконкур.ИФА}^+$ ) больше ОП<sub>крит</sub>;

ПП для  $K^+$  и  $K_{слаб}^+$  больше или равен 50%.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Образец считается положительным (подтвержденным), если ОП образца в лунке прямого ИФА больше ОП<sub>крит</sub> и ПП для него равен или больше 50 %.

Для интерпретации результатов исследования сывороток можно использовать коэффициент позитивности (КП), который рассчитывается по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{неконкур.ИФА}}{ОП_{крит.}}$$

Если  $КП \geq 1,0$ , исследуемый образец расценивать как положительный. Результат анализа считать отрицательным при  $КП < 1,0$ .

#### Интерпретация результатов

| ОП образца                               | ПП                   | Интерпретация | Рекомендация                                                        |
|------------------------------------------|----------------------|---------------|---------------------------------------------------------------------|
| больше ОП <sub>крит</sub>                | больше или равен 50% | положительный | -                                                                   |
| меньше ОП <sub>крит</sub>                | меньше 50%           | отрицательный | -                                                                   |
| ОП <sub>крит</sub> < ОП образца < 1,0    | меньше 50%           | отрицательный | -                                                                   |
| 1,0 < ОП образца < 3,0                   | меньше 50%           | -             | развести его РРО в 10, 25 или 50 раз и повторить исследование       |
| больше 3,0                               | меньше 50%           | -             | развести его РРО в 400 раз и повторить исследование                 |
| 0,9 × ОП <sub>крит</sub><br>«серая зона» | больше или равен 50% | сомнительный  | исследовать с помощью высокочувствительного теста «ИФА-НВsAg-0,01». |

#### ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

#### СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

#### ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

##### Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, в упаковке предприятия-

готовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

### Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 20 сут. Замораживание не допускается.

## УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

## ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBsAg», соответствует ТУ 9388-072-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «ИФА-HBsAg», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, факс (8-49643)-3-30-85, 8-800-333-33-47.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по науке

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«17» 12 2021 г.



С.Г.Марданлы



П.К. Варнавичус

## КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

**Набор реагентов «ИФА-НВsAg»**

**Комплекты № 1/3, №2/3**

**Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!**

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Внести</b>    | в лунки стрипов для неконкурентного ИФА - по 20 мкл РРО, в лунки стрипов для конкурентного ИФА – по 20 мкл РПА;<br>Внести по 100 мкл контрольных образцов. в остальные лунки – по 100 мкл исследуемых образцов (параллельно в лунки стрипов для неконкурентного и конкурентного ИФА)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Внести</b>    | во все лунки по 50 мкл рабочего разведения конъюгата                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Инкубация</b> | Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °С на шейкере (700 об/мин), либо<br>Протокол №2 - 2 ч. при 44 °С в термостате, либо<br>Протокол №3 - 2 ч. при 37 °С на шейкере (700 об/мин).<br>Допускается использовать также следующие режимы инкубации:<br>Протокол №4 - 1 ч 30 мин при 37 °С на шейкере (700 об/мин), либо<br>Протокол №5 - 2 ч при 37 °С в термостате,<br>однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл до 0,1 нг/мл).<br>Допускается использовать следующий режим инкубации:<br>Протокол №6 - 18 ч при 37 °С на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл.) |
| <b>Промыть</b>   | <i>в режиме "Overflow" – 5 раз ФСБ-Т</i><br><i>без режима "Overflow" – 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Внести</b>    | по 100 мкл раствора хромогена в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Инкубация</b> | 25 мин при 18-25 °С, или 20 мин при 37 °С в термостате                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Внести</b>    | по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Измерить</b>  | ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), "бланк" – по воздуху                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

ПРОШИТО  
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

« 17 » 12 2021 год

Ген. Директор  
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»  
Варнавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано  
и скреплено печатью

10 лист 06  
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"  
Гашенко Т.Ю.  
" 17 2021 г.



**"УТВЕРЖДАЮ"**

Генеральный директор

ЗАО "ЭКОлаб"



Т. Ю. Гашенко

2021 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению набора реагентов**

**«Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В»  
«ИФА-HBsAg»**

**Комплекты № 1/2р, №2/2р**

## **НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBsAg» предназначен для качественного выявления и подтверждения HBs-антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови человека, а также препаратах, приготовленных из крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов открытого типа.

Функциональное назначение: скрининг, подтверждение и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

### **Показания и противопоказания к применению изделия**

Основные показания к применению: профилактическое обследование доноров, лиц из групп риска, при подготовке к госпитализации, оперативному вмешательству, беременности, диагностика острой фазы гепатита В, диагностика хронического гепатита В, оценка лечения гепатита В.

Противопоказаний не существует.

### **Потенциальные потребители изделия**

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

### **Профессиональный уровень потенциальных пользователей**

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

### **Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности**

Гепатит В (HBV) — антропонозное вирусное заболевание, вызываемое возбудителем с выраженными гепатотропными свойствами — вирус гепатита В из семейства гепаднавирусов.

Основной резервуар и источник вирус гепатита В - вирусоносители, больные острыми и хроническими формами гепатита В (ВГВ).

Основной механизм передачи - парентальный. Пути передачи: половой, перинатальный, гемотрансфузионный, при медицинских процедурах. К группе риска относятся реципиенты донорской крови и ее препаратов; больные, нуждающиеся в проведении хронического гемодиализа; лица, подвергающиеся многократным лечебно-диагностическим и инструментальным процедурам с повреждением кожи и слизистых оболочек; а также медицинский персонал, имеющий профессиональный контакт с кровью больных, лица, практикующие внутривенное введение психотропных препаратов и ведущие беспорядочный половой образ жизни.

Основным маркером ВГВ-инфекции является поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg ВГВ). В зависимости от используемого метода анализа обнаружение HBsAg в сыворотке крови колеблется от нескольких дней до 4-6 недель.

Циркуляция HBsAg в крови более 6 мес свидетельствует о возможности развития хронической формы заболевания.

Своевременная диагностика гепатита и вовремя начатое лечение позволяют избежать развития заболевания, возникновения осложнений, перехода болезни в хроническую форму.

### СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

| Иммуносорбент                                                                    | моноклональные антитела к HBsAg, сорбированные в лунках разборных полистироловых планшетов с плоским дном для ИФА; допускается отдельная упаковка стрипов (по 4 стрипа в пакете)                                                                                                     | Комплект №1/2р     | Комплект №2/2р     |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 1 шт.              | 1 шт.              |
| Контрольный положительный образец (K <sup>+</sup> )                              | инактивированный, содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации не менее 5,0 МЕ/мл; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                         | 1 фл.<br>(1,0 мл)  | 1 фл.<br>(1,0 мл)  |
| Контрольный слабоположительный образец (K <sup>+</sup> слаб)                     | инактивированный; содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,1 МЕ/мл; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость с желтым оттенком различной интенсивности или аморфная масса белого цвета с желтым оттенком, после растворения – опалесцирующая жидкость слабо-желтого цвета | 1 фл.<br>(1,0 мл)  | 1 фл.<br>(1,0 мл)  |
| Контрольный отрицательный образец (K <sup>-</sup> )                              | инактивированный; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                                                                                          | 1 фл.<br>(1,5 мл)  | 1 фл.<br>(1,5 мл)  |
| Конъюгат                                                                         | моноклональные мышиные антитела к HBsAg, меченные пероксидазой хрена; прозрачная жидкость красного цвета                                                                                                                                                                             | 1 фл.<br>(3,2 мл)  | 1 фл.<br>(6,5 мл)  |
| Раствор для разведения конъюгата (РРК)                                           | опалесцирующая жидкость, бесцветная или с желтоватым оттенком                                                                                                                                                                                                                        | 1 фл.<br>(3,2 мл)  | -                  |
| 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)] | слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин                                                                                                                            | 1 фл.<br>(40 мл)   | 1 фл.<br>(40 мл)   |
| Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР)                            | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>(13 мл)   | 1 фл.<br>(13 мл)   |
| Хромоген (ТМБ)                                                                   | раствор тетраметилбензидина; прозрачная жидкость розового цвета                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>(1,0 мл)  | 1 фл.<br>(1,0 мл)  |
| Стоп-реагент                                                                     | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>(12,5 мл) | 1 фл.<br>(12,5 мл) |
| Одноразовые наконечники для автоматических пипеток                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 16 шт.             | 16 шт.             |

#### Примечания.

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т(x25), ЦБР, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов или их смешение.

3. Допускается использование ТМБ из разных серий набора.

4. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор может быть дополнительно укомплектован:

- вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),
- клейкой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

### ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Комплекты № 1/2р, №2/2р – для скринингового исследования при постановке непрямого неконкурентного ИФА в варианте ручной постановки, рассчитаны на исследование 96 образцов, включая контрольные, предназначены для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора.

Рекомендуется следующая схема внесения контрольных и исследуемых образцов:

| Кол-во стрипов              | 1   | 2    | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-----------------------------|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Кол-во контрольных образцов | 2   | 2    | 2     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     |
| Кол-во иссл. образцов       | 1-6 | 7-14 | 15-22 | 23-29 | 30-37 | 38-45 | 46-53 | 54-61 | 62-69 | 70-77 | 78-85 | 86-93 |

### ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемых образцах HBsAg он взаимодействует с антителами, иммобилизованными на поверхности лунок иммуносорбента. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело" связывается затем с конъюгатом и выявляется в цветной реакции с хромогеном.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация HBsAg) – 0,1; 0,05; 0,01 МЕ/мл (нг/мл) (в зависимости от выбранного протокола инкубации).

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, (СОП<sub>HBsAg</sub>-072), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП<sub>HBsAg</sub>-072) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Коэффициент вариации не более 8%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,77% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,87% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,57 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,82 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность, оцененная на случайной выборке 10000 доноров, составила 99,97% - 100%

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций в ходе клинических испытаний набора реагентов «ИФА-HBsAg» не выявлено.

Интерферирующие вещества: гемоглобин в концентрации до 200 г/л, билирубин - до 120 мкмоль/л; триглицериды – до 11 ммоль/л не оказывают влияния на результат анализа.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003), в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

РРК, РРО, РПА (при наличии) содержат мертиолят в безопасной концентрации.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

### ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка (плазма) крови человека объемом не менее 100 мкл.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и 6 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Для исследования образцов иммуноглобулинов, альбумина, криопреципитата, интерферона исходные растворы развести ФСБ-Т в соотношении 1:10, лиофильно высушенные препараты крови предварительно восстановить согласно инструкции по их применению, затем развести ФСБ-Т в соотношении 1:10 и вносить согласно инструкции по применению данного набора.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин

## СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Достоверность результатов анализа зависит от строгого соблюдения следующих правил:

- Используйте реагенты только данной серии набора (кроме ФСБ-Т(х25), ЦБР, ТМБ, стоп-реагента).
- Не используйте набор с истекшим сроком годности.
- В работе применяйте воду очищенную, соответствующую ФС.2.2.0020.18.
- Не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгата.
- Стеклопосуду тщательно мойте и ополаскивайте водой очищенной или используйте одноразовую посуду.
- Аккуратно разводите реагенты, избегая любого загрязнения.
- Ферментативная реакция очень чувствительна к присутствию ионов металла. Поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и растворами субстратов.
- Используйте для внесения каждой пробы сменный одноразовый наконечник.
- Никогда не используйте одну и ту же емкость, для приготовления конъюгата и раствора ТМБ.
- Проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы.

### Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин,

Термостат на 37 °С,

Термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и поддерживающий температуру в диапазоне от 37 до 44 °С

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

### Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

### Приготовление рабочих разведений контрольных образцов

За 10 мин до проведения ИФА во флакон с лиофилизированным  $K^{+}_{\text{слаб}}$  добавить 1,0 мл воды очищенной и аккуратно перемешать.

Разведенный  $K^{+}_{\text{слаб}}$  хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С.

### Приготовление рабочего разведения конъюгата (для Комплекта №1/2р)

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

Конъюгат развести РРК в соотношении 1:1.

При одномоментном использовании комплекта объединить содержимое флаконов с конъюгатом и с РРК, тщательно перемешать.

При «ручной» дробной постановке использовать соотношения объемов конъюгата и РРК, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

| Число стрипов | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12  |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Конъюгат, мл  | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1,0 | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,8 | 2,0 | 2,2 | 2,4 | 2,6 |
| РРК, мл       | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1,0 | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,8 | 2,0 | 2,2 | 2,4 | 2,6 |

*Рекомендация: при постановке на 1-3 стрипах конъюгат удобнее разводить в пробирках типа "эппендорф".*

Стабильность рабочего разведения конъюгата при температуре от 2 до 8 °С не более 30 сут, при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч. в защищенном от света месте.

#### **Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)**

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При использовании одного планшета 40 мл ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 2 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 2

| Число стрипов      | 1     | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     |
|--------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ФСБ-Т(х25), мл     | 3     | 7      | 10     | 13     | 17     | 20     | 23     | 27     | 30     | 33     | 37     |
| Вода очищенная, мл | до 75 | до 175 | до 250 | до 325 | до 425 | до 500 | до 575 | до 675 | до 750 | до 825 | до 925 |

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

#### **Приготовление раствора хромогена (ТМБ)**

Готовить перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света.

При использовании одного планшета 1,0 мл ТМБ внести во флакон с 20 мл ЦБР, тщательно перемешать.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ТМБ и ЦБР, указанные в табл. 3 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 3

| Компонент | Необходимый объем компонента в зависимости от числа используемых стрипов |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
|           | 1                                                                        | 2   | 3    | 4   | 5    | 6   | 7    | 8   | 9    | 10  | 11   | 12  |
| ТМБ, мл   | 0,05                                                                     | 0,1 | 0,15 | 0,2 | 0,25 | 0,3 | 0,35 | 0,4 | 0,45 | 0,5 | 0,55 | 0,6 |
| ЦБР, мл   | 1                                                                        | 2   | 3    | 4   | 5    | 6   | 7    | 8   | 9    | 10  | 11   | 12  |

Стабильность раствора хромогена при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч. в защищенном от света месте.

#### **Приготовление остальных реагентов**

Иммуносорбент, К<sup>+</sup>, К<sup>-</sup>, жидкий К<sup>+</sup><sub>слаб</sub>, конъюгат (Комплекта №2/2р), стоп-реагент – готовы к применению.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты хранить в плотно закрытой упаковке при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

#### **Проведение ИФА**

**Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.**

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

2. Внести по 100 мкл контрольных образцов. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл исследуемых образцов.

Во все лунки внести по 50 мкл раствора конъюгата. Содержимое лунок перемешать, аккуратно постукивая по краю планшета.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой.

Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °C на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №2 - 2 ч. при 44 °C в термостате, либо

Протокол №3 - 2 ч. при 37 °C на шейкере (700 об/мин).

Допускается использовать также следующие режимы инкубации:

Протокол №4 - 1 ч 30 мин при 37 °C на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №5 - 2 ч при 37 °C в термостате,

однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл (МЕ/мл) до 0,1 нг/мл (МЕ/мл)).

Допускается использовать следующий режим инкубации:

Протокол №6 - 18 ч при 37 °C на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл (МЕ/мл).)

*Примечание: При отсутствии у шейкера режима 18-ти часового встряхивания, установить максимально возможное время шейкирования, оставшееся время, после остановки, планшет инкубировать в нем же при температуре 37 °C.*

4. По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором в режиме «overflow» или 7 раз промывочным раствором и 1 раз водой дистиллированной при отсутствии режима «overflow», добавляя в каждую лунку не менее 350-370 мкл жидкости. Время между заполнением и аспирацией (замачивание) должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтрованной бумаге.

**Рекомендуется использовать:**

- режим отмывки с переполнением – «overflow» - с внесением в лунки по 600-700 мкл рабочего промывочного раствора;

- поперечную аспирацию раствора из лунок – режим «crosswise».

Необходимо следить за полной аспирацией после каждого цикла отмывки (остаточный объем в лунках не должен превышать 10 мкл).

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 мин.

5. Во все лунки внести по 100 мкл раствора хромогена, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 25 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте (планшет не закрывать) или в термостате при температуре 37 °C в течение 20 мин. (планшет закрыть чистой защитной пленкой).

6. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился раствор хромогена) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и приступить к регистрации результатов (ОП реакционной смеси после внесения стоп-реагента стабильна не более 40 мин).

**Регистрация и учет результатов**

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитывать только при выполнении следующих условий:

среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с  $K^+$  не менее, чем в 4 раза превышает среднее значение ОП в лунках с  $K^-$ ;

среднее значение ОП в лунках с  $K^-$  ( $ОП_{K^-cp}$ ) не более 0,150;

среднее значение ОП в лунках с  $K^+_{сл}$  больше критической величины оптической плотности ( $ОП_{крит}$ ), определяемой по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{K^-cp} + 0,04.$$

В противном случае исследование необходимо повторить.

Исследуемый образец считать положительным, если ОП в лунке с ним больше или равна  $ОП_{крит}$ .

Исследуемый образец считать отрицательным, если ОП в лунке с ним меньше  $ОП_{крит}$ .

Для интерпретации результатов исследования сывороток можно использовать коэффициент позитивности (КТП), который рассчитывается по формуле:

$$КП = \frac{ОПиссл.сыв.}{ОПкрит.}$$

Если  $КП \geq 1,0$ , исследуемый образец расценивать как положительный. Результат анализа считать отрицательным при  $КП < 1,0$ .

Все положительные при первичном обследовании образцы должны быть исследованы с помощью подтверждающего теста (рекомендуется использование комплекта № 3 набора "ИФА-НВsAg").

### ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

### СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

### ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

#### Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

#### Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 20 сут. Замораживание не допускается.

### УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

### ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания НВs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-НВsAg», соответствует ТУ 9388-072-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «ИФА-НВsAg», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, факс (8-49643)-3-30-85, 8-800-333-33-47.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.

4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по науке

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« 17 » \_\_\_\_\_ 2021 г.



С.Г.Марданлы

П.К. Варнавичус

**КРАТКАЯ СХЕМА ИФА**  
**Набор реагентов "ИФА-НВsAg"**  
**Комплекты № 1/2р, №2/2р**

**Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!**

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Внести</b>    | по 100 мкл контрольных образцов. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл исследуемых образцов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Внести</b>    | во все лунки по 50 мкл рабочего разведения конъюгата                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Инкубация</b> | <p>Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °С на шейкере (700 об/мин), либо<br/>         Протокол №2 - 2 ч. при 44 °С в термостате, либо<br/>         Протокол №3 - 2 ч. при 37 °С на шейкере (700 об/мин).<br/>         Допускается использовать также следующие режимы инкубации:<br/>         Протокол №4 - 1 ч 30 мин при 37 °С на шейкере (700 об/мин), либо<br/>         Протокол №5 - 2 ч при 37 °С в термостате,<br/>         однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл до 0,1 нг/мл).<br/>         Допускается использовать следующий режим инкубации:<br/>         Протокол №6 - 18 ч при 37 °С на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл.)</p> |
| <b>Промыть</b>   | <p>в режиме "Overflow" – 5 раз ФСБ-Т<br/>         без режима "Overflow" – 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Внести</b>    | по 100 мкл раствора хромогена в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Инкубация</b> | 25 мин при 18-25 °С, или 20 мин при 37 °С в термостате                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Внести</b>    | по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Измерить</b>  | ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

ПРОШИТО  
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

«17» 12 2021 год

Ген. Директор  
ООО «ВЬЕМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»  
Варнавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано  
и скреплено печатью

9 лист 06

Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"  
Гашенко Т.Ю.  
«17» 12 2021 г.



**"УТВЕРЖДАЮ"**

Генеральный директор

ЗАО "ЭКОлаб"



Т. Ю. Гашенко

2021 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению набора реагентов**

**«Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В»  
«ИФА-HBsAg»**

**Комплекты № 1/1, 1/2, 1/2а**

## **НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBsAg» предназначен для качественного выявления и подтверждения HBs-антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови человека, а также препаратах, приготовленных из крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов открытого типа.

Функциональное назначение: скрининг, подтверждение и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

**Показания и противопоказания к применению изделия**

Основные показания к применению: профилактическое обследование доноров, лиц из групп риска, при подготовке к госпитализации, оперативному вмешательству, беременности, диагностика острой фазы гепатита В, диагностика хронического гепатита В, оценка лечения гепатита В.

Противопоказаний не существует.

**Потенциальные потребители изделия**

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

**Профессиональный уровень потенциальных пользователей**

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

**Описание целевого аналита, сведения о его научной обоснованности**

Гепатит В (HBV) — антропонозное вирусное заболевание, вызываемое возбудителем с выраженными гепатотропными свойствами — вирус гепатита В из семейства гепаднавирусов.

Основной резервуар и источник вирус гепатита В - вирусоносители, больные острыми и хроническими формами гепатита В (ВГВ).

Основной механизм передачи - парентальный. Пути передачи: половой, перинатальный, гемотрансфузионный, при медицинских процедурах. К группе риска относятся реципиенты донорской крови и ее препаратов; больные, нуждающиеся в проведении хронического гемодиализа; лица, подвергающиеся многократным лечебно-диагностическим и инструментальным процедурам с повреждением кожи и слизистых оболочек; а также медицинский персонал, имеющий профессиональный контакт с кровью больных, лица, практикующие внутривенное введение психотропных препаратов и ведущие беспорядочный половой образ жизни.

Основным маркером ВГВ-инфекции является поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg ВГВ). В зависимости от используемого метода анализа обнаружение HBsAg в сыворотке крови колеблется от нескольких дней до 4-6 недель.

Циркуляция HBsAg в крови более 6 мес свидетельствует о возможности развития хронической формы заболевания.

Своевременная диагностика гепатита и вовремя начатое лечение позволяют избежать развития заболевания, возникновения осложнений, перехода болезни в хроническую форму.

### СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

| Иммуносорбент                                                                    | моноклональные антитела к HBsAg, сорбированные в лунках разборных полистироловых планшетов с плоским дном для ИФА; допускается отдельная упаковка стрипов (по 4 стрипа в пакете)                                                                                                     | Компл. № 1/1<br>2 шт. | Компл. № 1/2<br>5 шт. | Компл. №1/2а<br>1 шт. |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Контрольный положительный образец (K <sup>+</sup> )                              | инактивированный, содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации не менее 5,0 МЕ/мл; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                         | 1 фл.<br>(2,0 мл)     | 1 фл.<br>(4,0 мл)     | 1 фл.<br>(1,0 мл)     |
| Контрольный слабоположительный образец (K <sup>+</sup> слаб)                     | инактивированный; содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,1 МЕ/мл; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость с желтым оттенком различной интенсивности или аморфная масса белого цвета с желтым оттенком, после растворения – опалесцирующая жидкость слабо-желтого цвета | 2 фл.<br>(по 1,0 мл)  | 3 фл.<br>(по 1,0 мл)  | 1 фл.<br>(1,0 мл)     |
| Контрольный отрицательный образец (K <sup>-</sup> )                              | инактивированный; прозрачная ~ или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности                                                                                                                                                                        | 1 фл.<br>(2,0 мл)     | 2 фл.<br>(по 4,0 мл)  | 1 фл.<br>(1,5 мл)     |
| Конъюгат                                                                         | моноклональные мышиные антитела к HBsAg, меченные пероксидазой хрена; прозрачная жидкость красного цвета                                                                                                                                                                             | 2 фл.<br>(по 4,2 мл)  | 1 фл.<br>(17 мл)      | 1 фл.<br>(5,0 мл)     |
| Раствор для разведения конъюгата (РРК)                                           | опалесцирующая жидкость, бесцветная или с желтоватым оттенком                                                                                                                                                                                                                        | 2 фл.<br>(по 4,2 мл)  | 1 фл.<br>(17 мл)      | 1 фл.<br>(5,0 мл)     |
| 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)] | слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин                                                                                                                            | 2 фл. (по 40 мл)      | 2 фл.<br>(по 100 мл)  | 1 фл.<br>(40 мл)      |
| Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР)                            | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 2 фл.<br>(по 20 мл)   | 5 фл.<br>(по 20 мл)   | 1 фл.<br>(20 мл)      |
| Хромоген (ТМБ)                                                                   | раствор тетраметилбензидина; прозрачная розового цвета жидкость                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>(2,2 мл)     | 1 фл.<br>(5,5 мл)     | 1 фл.<br>(1,5 мл)     |
| Стоп-реагент                                                                     | прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                                                                                                                      | 1 фл.<br>(25 мл)      | 1 фл.<br>(70 мл)      | 1 фл.<br>(25 мл)      |
| Одноразовые наконечники для автоматических пипеток                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 16 шт.                | 16 шт.                | 16 шт.                |

#### Примечания.

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т(х25), ЦБР, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов или их смешение.

3. Допускается использование ТМБ из разных серий набора.

4. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор может быть дополнительно укомплектован:

- вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),

- клейкой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

### ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Комплект № 1/1 - для скринингового исследования при постановке непрямого неконкурентного ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора открытого типа на целом планшете; рассчитан на проведение 192 анализов, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 192 (96x2) определений на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа.

Комплект № 1/2 - для скринингового исследования при постановке непрямого неконкурентного ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора; рассчитан на исследование 480 образцов, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 480 (96x5) определений на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа.

Комплект № 1/2а - для скринингового исследования при постановке непрямого неконкурентного ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора открытого типа, рассчитан на исследование 96 образцов, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа, возможна 3-кратная постановка на автоматических анализаторах (разборность 32x3).

Все комплекты набора реагентов позволяют проводить отдельные исследования с использованием необходимого количества стрипов.

Рекомендуется следующая схема внесения контрольных и исследуемых образцов:

| Кол-во стрипов              | 1   | 2    | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-----------------------------|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Кол-во контрольных образцов | 2   | 2    | 2     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     | 3     |
| Кол-во иссл. образцов       | 1-6 | 7-14 | 15-22 | 23-29 | 30-37 | 38-45 | 46-53 | 54-61 | 62-69 | 70-77 | 78-85 | 86-93 |

### ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемых образцах HBsAg он взаимодействует с антителами, иммобилизованными на поверхности лунок иммуносорбента. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело" связывается затем с конъюгатом и выявляется в цветной реакции с хромогеном.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация HBsAg) – 0,1; 0,05; 0,01 МЕ/мл (нг/мл) (в зависимости от выбранного протокола инкубации).

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, (СОП<sub>HBsAg</sub>-072), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП<sub>HBsAg</sub>-072) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Коэффициент вариации не более 8%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,77% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,87% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,57 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,82 % - 100 %

Плазма крови человека: 99,50 % - 100 %

Диагностическая специфичность, оцененная на случайной выборке 10000 доноров, составила 99,97% - 100%

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций в ходе клинических испытаний набора реагентов «ИФА-HBsAg» не выявлено.

Интерферирующие вещества: гемоглобин в концентрации до 200 г/л, билирубин - до 120 мкмоль/л; триглицериды – до 11 ммоль/л не оказывают влияния на результат анализа.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003), в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

РРК, РРО, РПА (при наличии) содержат мертиолят в безопасной концентрации.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ 287-113 "Методические

казания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

## ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка (плазма) крови человека объемом не менее 100 мкл.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и 6 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Для исследования образцов иммуноглобулинов, альбумина, криопреципитата, интерферона исходные растворы развести ФСБ-Т в соотношении 1:10, лиофильно высушенные препараты крови предварительно восстановить согласно инструкции по их применению, затем развести ФСБ-Т в соотношении 1:10 и вносить согласно инструкции по применению данного набора.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин

## СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Достоверность результатов анализа зависит от строгого соблюдения следующих правил:

- Используйте реагенты только данной серии набора (кроме ФСБ-Т(х25), ЦБР, ТМБ, стоп-реагента).
- Не используйте набор с истекшим сроком годности.
- В работе применяйте воду очищенную, соответствующую ФС.2.2.0020.18.
- Не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгата.
- Стекланную посуду тщательно мойте и ополаскивайте водой очищенной или используйте одноразовую посуду.
- Аккуратно разводите реагенты, избегая любого загрязнения.
- Ферментативная реакция очень чувствительна к присутствию ионов металла. Поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и растворами субстратов.
- Используйте для внесения каждой пробы сменный одноразовый наконечник.
- Никогда не используйте одну и ту же емкость, для приготовления конъюгата и раствора ТМБ.
- Проверьте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы.

## Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин,

Термостат на 37 °С,

Термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и поддерживающий температуру в диапазоне от 37 до 44 °С

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Анализатор иммуноферментный автоматический.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

### **Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА**

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

### **Приготовление рабочих разведений контрольных образцов**

За 10 мин до проведения ИФА во флакон с лиофилизированным  $K^{+}$  слаб. добавить 1,0 мл воды очищенной и аккуратно перемешать.

Разведенный  $K^{+}$  слаб. хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С.

### **Приготовление рабочего разведения конъюгата**

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

Конъюгат развести РРК в соотношении 1:1.

При одномоментном использовании комплекта объединить содержимое флаконов с конъюгатом и с РРК, тщательно перемешать.

При «ручной» дробной постановке использовать соотношения объемов конъюгата и РРК, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

| Число стрипов | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12  |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Конъюгат, мл  | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1,0 | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,8 | 2,0 | 2,2 | 2,4 | 2,6 |
| РРК, мл       | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1,0 | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,8 | 2,0 | 2,2 | 2,4 | 2,6 |

*Рекомендация: при постановке на 1-3 стрипах конъюгат удобнее разводить в пробирках типа "эппендорф".*

Стабильность рабочего разведения конъюгата при температуре от 2 до 8 °С не более 30 сут, при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч. в защищенном от света месте.

### **Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)**

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При использовании одного планшета 40 мл ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 2 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 2

| Число стрипов      | 1     | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     |
|--------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ФСБ-Т(х25), мл     | 3     | 7      | 10     | 13     | 17     | 20     | 23     | 27     | 30     | 33     | 37     |
| Вода очищенная, мл | до 75 | до 175 | до 250 | до 325 | до 425 | до 500 | до 575 | до 675 | до 750 | до 825 | до 925 |

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

### **Приготовление раствора хромогена (ТМБ)**

Готовить перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света.

При использовании одного планшета 1,0 мл ТМБ внести во флакон с 20 мл ЦБР, тщательно перемешать.

При «ручной» дробной постановке использовать соотношения объемов ТМБ и ЦБР, указанные в табл. 3 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 3

| Компонент | Необходимый объем компонента в зависимости от числа используемых стрипов |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
|           | 1                                                                        | 2   | 3    | 4   | 5    | 6   | 7    | 8   | 9    | 10  | 11   | 12  |
| ТМБ, мл   | 0,05                                                                     | 0,1 | 0,15 | 0,2 | 0,25 | 0,3 | 0,35 | 0,4 | 0,45 | 0,5 | 0,55 | 0,6 |
| ЦБР, мл   | 1                                                                        | 2   | 3    | 4   | 5    | 6   | 7    | 8   | 9    | 10  | 11   | 12  |

Стабильность раствора хромогена при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч. в защищенном от света месте.

### **Приготовление остальных реагентов**

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты хранить в плотно закрытой упаковке при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

### **Проведение ИФА**

**Внимание!** Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

2. Внести по 100 мкл контрольных образцов. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл исследуемых образцов.

Во все лунки внести по 50 мкл раствора конъюгата. Содержимое лунок перемешать, аккуратно постукивая по краю планшета.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой.

Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °С на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №2 - 2 ч. при 44 °С в термостате, либо

Протокол №3 - 2 ч. при 37 °С на шейкере (700 об/мин).

Допускается использовать также следующие режимы инкубации:

Протокол №4 - 1 ч 30 мин при 37 °С на шейкере (700 об/мин), либо

Протокол №5 - 2 ч при 37 °С в термостате,

однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл до 0,1 нг/мл).

Допускается использовать следующий режим инкубации:

Протокол №6 - 18 ч при 37 °С на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл.)

Примечание: При отсутствии у шейкера режима 18-ти часового встряхивания, установить максимально возможное время шейкирования, оставшееся время, после остановки, планшет инкубировать в нем же при температуре 37 °С.

4. По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором в режиме «overflow» или 7 раз промывочным раствором и 1 раз водой дистиллированной при отсутствии режима «overflow», добавляя в каждую лунку не менее 350-370 мкл жидкости. Время между заполнением и аспирацией (замачивание) должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтрованной бумаге.

### **Рекомендуется использовать:**

- режим отмытки с переполнением – «overflow» - с внесением в лунки по 600-700 мкл рабочего промывочного раствора;

- поперечную аспирацию раствора из лунок – режим «crosswise».

Необходимо следить за полной аспирацией после каждого цикла отмытки (остаточный объем в лунках не должен превышать 10 мкл).

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 мин.

5. Во все лунки внести по 100 мкл раствора хромогена, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 25 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте (планшет не закрывать) или в термостате при температуре 37 °С в течение 20 мин. (планшет закрыть чистой защитной пленкой).

6. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился раствор хромогена) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и приступить к регистрации результатов (ОП реакционной смеси после внесения стоп-реагента стабильна не более 40 мин).

### **Регистрация и учет результатов**

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитывать только при выполнении следующих условий:

среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с  $K^+$  не менее, чем в 4 раза превышает среднее значение ОП в лунках с  $K^-$ ;

среднее значение ОП в лунках с  $K^-$  ( $ОП_{K^- \text{ ср}}$ ) не более 0,150;

среднее значение ОП в лунках с  $K^+$  больше критической величины оптической плотности ( $ОП_{\text{крит}}$ ), определяемой по формуле:

$$ОП_{\text{крит}} = ОП_{K^- \text{ ср}} + 0,04.$$

В противном случае исследование необходимо повторить.

Исследуемый образец считать положительным, если ОП в лунке с ним больше или равна  $ОП_{\text{крит}}$ .

Исследуемый образец считать отрицательным, если ОП в лунке с ним меньше  $ОП_{\text{крит}}$ .

Для интерпретации результатов исследования сывороток можно использовать коэффициент позитивности (КП), который рассчитывается по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{\text{иссл. сыв.}}}{ОП_{\text{крит}}}.$$

Если  $КП \geq 1,0$ , исследуемый образец расценивать как положительный. Результат анализа считать отрицательным при  $КП < 1,0$ .

Все положительные при первичном обследовании образцы должны быть исследованы с помощью подтверждающего теста (рекомендуется использование комплекта № 3 набора «ИФА-НВsAg»).

## ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

Таблица 4

| Количество стрипов                       | ФСБ-Т            |                   | Рабочий раствор конъюгата |          | Раствор хромогена |          |
|------------------------------------------|------------------|-------------------|---------------------------|----------|-------------------|----------|
|                                          | ФСБ-Т (x25) (мл) | Вода дистил. (мл) | Конъюгат (мл)             | РРК (мл) | ЦБР (мл)          | ТМБ (мл) |
| <b>4</b><br>(только для комплекта 1/2а)  | 16               | 384               | 1,6                       | 1,6      | 6,4               | 0,32     |
| <b>8</b><br>(только для комплекта 1/2а)  | 32               | 768               | 3,2                       | 3,2      | 12,8              | 0,64     |
| <b>12</b><br>(только для комплекта 1/2а) | 40               | 960               | 4,8                       | 4,8      | 19,2              | 0,96     |

**Спектрофотометрический контроль стадий ИФА при постановке на автоматических анализаторах.**

Контроль внесения исследуемых образцов и конъюгата проводить при длине волны 450 нм. При этом  $ОП > 0,1$ .

Контроль внесения рабочего раствора хромогена проводить при длине волны 450 нм. При этом  $ОП > 0,05$ .

## СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

## ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

### Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

### Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 20 сут. Замораживание не допускается.

## УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

## ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления HBs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBsAg», соответствует ТУ 9388-072-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «ИФА-HBsAg», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643) 3-23-11, 3-30-93, факс (8-49643)-3-30-85, 8-800-333-33-47.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.

протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по науке

С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«17» 12 2021 г.

П.К. Варнавичус

**КРАТКАЯ СХЕМА ИФА**  
**Набор реагентов «ИФА-НВsAg»**  
**Комплекты № 1/1, 1/2, 1/2а**

| <b>Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Внести</b>                                                            | по 100 мкл контрольных образцов. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл исследуемых образцов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Внести</b>                                                            | во все лунки по 50 мкл рабочего разведения конъюгата                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Инкубация</b>                                                         | <p>Протокол №1 - 1 ч. при 40-44 °С на шейкере (700 об/мин), либо</p> <p>Протокол №2 - 2 ч. при 44 °С в термостате, либо</p> <p>Протокол №3 - 2 ч. при 37 °С на шейкере (700 об/мин).</p> <p>Допускается использовать также следующие режимы инкубации:</p> <p>Протокол №4 - 1 ч 30 мин при 37 °С на шейкере (700 об/мин), либо</p> <p>Протокол №5 - 2 ч при 37 °С в термостате,</p> <p>однако при двух последних режимах инкубации чувствительность тест-системы снижается (показатель аналитической чувствительности увеличивается с 0,05 нг/мл до 0,1 нг/мл).</p> <p>Допускается использовать следующий режим инкубации:</p> <p>Протокол №6 - 18 ч при 37 °С на шейкере (700 об/мин). (Показатель чувствительности - 0,01 нг/мл.)</p> |
| <b>Промыть</b>                                                           | <p>в режиме "Overflow" – 5 раз ФСБ-Т</p> <p>без режима "Overflow" – 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Внести</b>                                                            | по 100 мкл раствора хромогена в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Инкубация</b>                                                         | 25 мин при 18-25 °С, или 20 мин при 37 °С в термостате                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Внести</b>                                                            | по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Измерить</b>                                                          | ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

ПРОШИТО  
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

«17» 12 2021 год

Ген. Директор  
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»  
Варнавинус Н.К.



Прошнуровано, пронумеровано  
и скреплено печатью

10 лист об  
Ген. директор ЗАО «ЭКОлаб»  
Гашенко Т.Ю.  
" 12 2021 г.



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

**контрольной панели сывороток, содержащих и не содержащих  
поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg),**

**«СОП HBsAg - 072»**

**1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Контрольная панель сывороток предназначена для внутрилабораторного контроля качества (оценка правильности) иммуноферментного анализа (ИФА) при выявлении HBsAg и может быть использована в клинко-диагностических лабораториях для количественного определения HBsAg в сыворотке (плазме) крови человека.

**2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА****2.1. Принцип действия**

Исследование образцов сывороток контрольной панели и сравнение полученных результатов с аттестованными значениями позволяет осуществлять внутрилабораторный контроль качества выявления HBsAg по показателю «правильность».

Количественное определение HBsAg может быть информативным при мониторинге острого гепатита В и лечении хронического гепатита В у HBsAg-положительных лиц. Есть свидетельства, что определение концентрации сывороточного HBsAg в сочетании с ПЦР-анализом на ДНК могут быть использованы для дифференцирования пациентов, не требующих лечения (неактивных носителей) от лиц, которым необходимо пройти курс антиретровирусной терапии.

**2.2. Состав набора**

- Лиофильно высушенные контрольные образцы: №№1-6 – содержат HBsAg количеством 1-0,01 нг/мл соответственно, образцы №№7,8 – не содержат HBsAg 8фл. (по 1,0мл);

HBsAg-положительные образцы калиброваны по первому международному стандарту на HBsAg, Великобритания<sup>1</sup>.

Каждый флакон с контрольным образцом содержит: фосфатно-солевой буферный раствор; нормальную человеческую плазму, не содержащую маркеры ВГС, ВИЧ, сифилиса, инактивированную; бренидокс как консервант (0,05%).

- раствор для разведения исследуемых образцов (РРО) 1фл. (10мл.);
- инструкция по применению;
- паспорт;
- приложение;

<sup>1</sup> 1<sup>st</sup> International standard for HBsAg (NIBSC Code Number 80/549)

### 3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При подготовке и проведении анализа следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках и респираторе;
- для предотвращения выброса материала при разгерметизации флаконов пробку следует сначала слегка приоткрыть, а лишь затем извлечь полностью;
- не пипетировать растворы ртом;
- все использованные материалы подвергать дезинфекции в соответствии с требованиями СП 1.3.1285-03 и МУ-287-113.

### 4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- оборудование, необходимое при постановке ИФА, в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов.

### 5. ПРОВЕДЕНИЕ КОНТРОЛЯ

#### 5.1. Подготовка к применению

После вскрытия коробки флаконы с сыворотками проверяются на целостность и наличие этикеток. При обнаружении повреждения, флакон следует уничтожить.

В каждый флакон с лиофилизированными образцами сыворотки внести по **1,0 мл дистиллированной воды** одноразовым наконечником. Содержимое флаконов тщательно перемешать до полного растворения образца и выдержать при температуре 18-25°C не менее 15 минут. Регидратированный образец представляет собой прозрачный бесцветный или светло-желтого цвета раствор, без осадка, допускается опалесценция.

Восстановленные образцы хранить при температуре 2-8°C в течение двух недель. При температуре минус 20°C – в течение 2 месяцев.

#### 5.2. Проведение анализа и учет результатов

**5.2.1. Оценка правильности ИФА.** Анализ образцов контрольной панели и учет результатов проводить в соответствии с «Инструкцией по применению» используемого набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg с чувствительностью 0,01 нг/мл. Исследование каждого образца следует проводить не менее, чем в 3 лунках.

Проведенный анализ считать удовлетворительным по показателю «правильность», если образцы панели, содержащие HBsAg, определены как положительные, а образцы, не содержащие HBsAg, - как отрицательные.

Нарушение правильности анализа может быть вызвано несоблюдением условий проведения ИФА в лаборатории или низким качеством используемого набора реагентов для выявления HBsAg.

5.2.2. Количественное определение HBsAg. В качестве алгоритма исследования рекомендуется использовать следующую схему анализа:

1 этап. HBsAg-положительную сыворотку с коэффициентом позитивности (КП)<sup>2</sup> <10 исследуют без разведения, а с КП>10 исследуют в разведении 1:400 (напр., 1мл РРО + 2,5мкл нативной сыворотки) не менее чем в 3-х лунках. Контрольные образцы, содержащие HBsAg, вносят не менее чем в 3 лунки иммуносорбента. В линейных координатах построить калибровочный график, для чего по точкам, ординатами которых являются средние значения ОП в лунках с  $K^+_{1нг}$ ,  $K^+_{0,5}$ ,  $K^+_{0,25}$ ,  $K^+_{0,1}$ ,  $K^+_{0,05}$ ,  $K^+_{0,01}$  а абсциссами – соответствующие значения содержания HBsAg в нг/мл (1; 0,5; 0,25; 0,1; 0,05; 0,01), провести кривую, по которой вычисляют концентрацию HBsAg в исследуемом образце. При исследовании разведенного образца необходимо учесть фактор разведения, т.е. полученную концентрацию HBsAg необходимо умножить на 400.

2 этап. Если КП образца, разведенного в 400 раз, превышает 10, необходимо приготовить из разведения 1:400 разведения

- 1:1000 (200 мкл образца 1:400 + 300мкл РРО),
- 1:2000 (100 мкл образца 1:400 + 400мкл РРО),
- 1:4000 (50 мкл образца 1:400 + 450мкл РРО),
- 1:8000 (25 мкл образца 1:400 + 475мкл РРО)

и повторить анализ.

Для расчета количества HBsAg необходимо выбрать разведение образца, при котором КП<10, при этом необходимо учесть фактор разведения, т.е. полученную по графику концентрацию HBsAg необходимо сначала умножить на 400, а затем на выбранное разведение (1:1000, 1:2000; 1:4000). При этом надо учитывать, что погрешность данной оценки может достигать 20%.

В случае получения неудовлетворительных результатов необходимо провести тщательный анализ условий проведения ИФА в лаборатории.

Причиной снижения чувствительности анализа может быть:

- уменьшение времени инкубации на любой стадии анализа;
- использование загрязненной (в т.ч., дезинфицирующими и моющими средствами) посуды и наконечников;
- использование непосредственно на рабочем месте в качестве дезинфицирующих средств перекиси водорода или хлорсодержащих растворов;
- некачественная отмывка после инкубации с сыворотками (уменьшенная доза внесения промывочного раствора в лунку; неполная аспирация раствора);
- использование растворов, непрогретых перед постановкой до комнатной температуры;
- размещение планшетов в термостате стопкой;
- низкая температура в лабораторных комнатах;

$$^2 \text{ КП} = \frac{\text{ОПобр}}{\text{ОПкрит}}$$

• нарушение правил и сроков хранения вскрытых компонентов при  
дробном использовании набора.

Возможные причины снижения специфичности анализа:

- контаминация промывающего устройства или низкого качества дистиллированная вода;
- некачественная отмывка после инкубации с конъюгатом (уменьшенная доза внесения промывочного раствора в лунку; неполная аспирация раствора);
- ошибка при разведении конъюгата;
- многократное использование наконечников и посуды для разведения ТМБ;
- загрязнение или дефект дна лунок планшета;
- неисправность спектрофотометра.

## **6. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ**

- транспортирование производится при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут.
- Хранить панель при температуре 2-8°C.
- Срок годности – 5 лет со дня выпуска.

## **7. УСЛОВИЯ ОТПУСКА**

Для учреждений здравоохранения.

*По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1, тел: (49643)3-1374, 3-2311, факс 3-3143.*

Прошнуровано, пронумеровано  
и скреплено печатью

4 лист 2

Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"

Гашенко Т.Ю.

2021 г.

