

СПРАВКА

о медицинском изделии:

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0,01 МЕ/мл» «ИФА-HBsAg-0,01»

Описание изделия

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0,01 МЕ/мл» «ИФА-HBsAg-0,01» 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.

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 анализата, 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.

Принцип действия изделия

При наличии в исследуемых образцах HBsAg он во время первой инкубации взаимодействует с антиHBsAg иммуносорбента. Образовавшийся комплекс "анти-HBs-HBsAg" связывается с антиHBsAg, меченными биотином (конъюгат-1), с образованием комплекса "анти-HBs-HBsAg-анти-HBs-биотин". Во время второй инкубации стрептавидин, меченный пероксидазой хрена (конъюгат-2), связывается с биотинилированными антителами. Комплекс "анти-HBs-HBsAg-анти-HBs-биотин-стрептавидин-ПХ" выявляется в цветной реакции с хромогеном, результаты которой регистрируются спектрофотометрически.

Сведения обо всех имеющих отношение к принципу действия функциональных характеристиках изделия

По показателям качества набор должен соответствовать требованиям и нормам, приведенным в ТУ 9398-103-70423725-2020.

	Наименование показателя	Характеристика и нормы	Методы контроля
1	2	3	4
1.	Внешний вид реагента		п. 4.1
1.1.	Иммуносорбент	96-луночный разборный плоскодонный полистироловый планшет с прозрачными бесцветными лунками	
1.2.	K ⁺ , контрольный положительный образец	прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности	
1.3.	K ⁺ _{слаб} , контрольный слабоположительный образец	аморфная масса белого цвета с желтым оттенком, после растворения – опалесцирующая жидкость слабо-желтого цвета	
1.4.	K ⁻ , контрольный отрицательный образец	прозрачная или со слабой опалесценцией с желтым оттенком различной интенсивности жидкость	
1.5.	Конъюгат-1	Опалесцирующая жидкость синего цвета	
1.6.	Конъюгат-2	Прозрачная жидкость слабо-желтого цвета	
1.7.	РРК-1, раствор для разведения конъюгата-1	Прозрачная жидкость синего цвета	
1.8.	РРК-2, раствор для разведения конъюгата-2	Прозрачная жидкость красного цвета	
1.9.	ФСБ-Т(х25), 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином	слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	
1.10.	ЦБР, цитратный буферный раствор с перекисью водорода	прозрачная бесцветная жидкость	
1.11.	ТМБ, хромоген	прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	
1.12.	Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	

	Наименование показателя	Характеристика и нормы	Методы контроля
1	2	3	4
1.13.	РПА, раствор подтверждающего агента	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	
1.14.	РРО, Раствор для разведения образцов	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета	
2.	Технические характеристики		
2.1.	pH: ФСБ-Т(х25) ЦБР	при разведении в 25 раз водой очищенной - от 7,3 до 7,5 от 3,9 до 4,1	п. 4.2
2.2.	Растворимость	лиофилизированный $K^{+}_{\text{слаб}}$ должен растворяться в 1,0 мл воды очищенной в течение 10 мин при температуре от 18 до 25 °С при перемешивании	п.4.3
2.3.	Значение оптической плотности K^{+}	Не менее 1,0	п.4.4.
2.4.	Значение оптической плотности $K^{+}_{\text{слаб}}$	Больше ОПкрит	
2.5.	Значение оптической плотности K^{-}	Не более 0,15	
2.6.	Процент подавления для K^{+} и $K^{+}_{\text{слаб}}$ (при использовании комплекта № 3)	Больше или равно 50 %	
3.	Показатели правильности определения		п. 4.4.
3.1	Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация HBsAg), нг/мл (МЕ/мл)	0,01	п. 4.4.4
3.2.	Коэффициент вариации $ОП_{K^{+}}$, $ОП_{K^{+}_{\text{слаб}}}$	не более 8%	п. 4.4.6.
3.3.	Чувствительность	определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, (СОП _{HBsAg} -072), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.	п. 4.4.5.
3.4.	Специфичность	определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП _{HBsAg} -072) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.	п. 4.4.6.

Комплектация

Набор выпускается в четырех базовых вариантах комплектации.

В состав набора входят следующие реагенты:

Комплект №1

Иммуносорбент – 2 шт;

K^+ – контрольный положительный образец – 1 фл. (2,0 мл),

K^+ слаб – контрольный слабоположительный образец – 2 фл. (по 1,0 мл),

K^- – контрольный отрицательный образец – 1 фл. (2,0 мл),

Конъюгат-1 – 1 фл. (1,5 мл),

Конъюгат-2 – 1 фл. (0,3 мл),

РРК-1 – раствор для разведения конъюгата 1 2 фл. (по 7,0 мл),

РРК-2 – раствор для разведения конъюгата 2 2 фл. (по 14 мл),

ФСБ-Т(х25) – 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином. – 2 фл. (по 40 мл),

Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР) – 2 фл. (по 14 мл),

Хромоген (ТМБ) – 1 фл. (1,5 мл),

Стоп-реагент – 1 фл. (25 мл),

Одноразовые наконечники для автоматических пипеток (16 шт.).

Принадлежности:

- вспомогательные пластиковые емкости (4 шт.),

- клейкая пленка для планшетов (4 шт.).

Комплект №1/2

Иммуносорбент – 5 шт;

K^+ – контрольный положительный образец – 1 фл. (4,0 мл),

K^+ слаб – контрольный слабоположительный образец – 3 фл. (по 1,0 мл),

K^- – контрольный отрицательный образец – 2 фл. (по 4,0 мл),

Конъюгат-1 – 1 фл. (3,5 мл),

Конъюгат-2 – 1 фл. (0,75 мл),

РРК-1 – раствор для разведения конъюгата 1 5 фл. (по 7,0 мл),

РРК-2 – раствор для разведения конъюгата 2 5 фл. (по 14 мл),

ФСБ-Т(х25) – 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином. – 2 фл. (по 100 мл),

Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР) – 5 фл. (по 14 мл),

Хромоген (ТМБ) – 1 фл. (4,0 мл),

Стоп-реагент – 1 фл. (70 мл),

Одноразовые наконечники для автоматических пипеток (32 шт.).

Принадлежности:

- вспомогательные пластиковые емкости (8 шт.),

- клейкая пленка для планшетов (10 шт.).

Комплект №2

Иммуносорбент – 1 шт;

K^+ – контрольный положительный образец – 1 фл. (1,0 мл),

$K^+_{\text{слаб}}$ – контрольный слабоположительный образец – 1 фл. (1,0 мл),

K^- – контрольный отрицательный образец – 1 фл. (1,5 мл),

Конъюгат-1 – 1 фл. (0,7 мл),

Конъюгат-2 – 1 фл. (0,14 мл),

РРК-1 – раствор для разведения конъюгата 1 1 фл. (7,0 мл),

РРК-2 – раствор для разведения конъюгата 2 1 фл. (14 мл),

ФСБ-Т(х25) – 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином. – 1 фл. (40 мл),

Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР) – 1 фл. (14 мл),

Хромоген (ТМБ) – 1 фл. (0,8 мл),

Стоп-реагент – 1 фл. (12,5 мл),

Одноразовые наконечники для автоматических пипеток (16 шт.).

Принадлежности:

- вспомогательные пластиковые емкости (4 шт.),

- клейкая пленка для планшетов (4 шт.).

Комплект №3

Иммуносорбент – 1 шт;

K^+ – контрольный положительный образец – 1 фл. (1,5 мл),

$K^+_{\text{слаб}}$ – контрольный слабоположительный образец – 1 фл. (1,0 мл),

K^- – контрольный отрицательный образец – 1 фл. (2,5 мл),

Конъюгат-1 – 1 фл. (0,7 мл),

Конъюгат-2 – 1 фл. (0,14 мл),

РРК-1 – раствор для разведения конъюгата 1 1 фл. (7,0 мл),

РРК-2 – раствор для разведения конъюгата 2 1 фл. (14,0 мл),

РРО – раствор для разведения образцов 1 фл. (15 мл)

РПА – раствор подтверждающего агента 1 фл. (3 мл)

ФСБ-Т(х25) – 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином. – 1 фл. (40 мл),

Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР)– 1 фл. (14 мл),
Хромоген (ТМБ) — 1 фл. (0,8 мл),
Стоп-реагент – 1 фл. (12,5 мл),
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток (16 шт.).

Принадлежности:

- вспомогательные пластиковые емкости (4 шт.),
- клейкая пленка для планшетов (4 шт.).

Область применения

Клиническая лабораторная диагностика.

Генеральный директор ЗАО "ЭКОлаб"



Т. Ю. Гашенко

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

6 лист 06

Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб" Гашенко Т.Ю.
"24" 07 2022 г.



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор ЗАО "ЭКОлаб"

Т.Ю.Гашенко

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания

HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0,01 МЕ/мл»

"ИФА-HBsAg-0,01"

Комплекты № №1, 1/2, 2

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0,01 МЕ/мл» «ИФА-HBsAg-0,01» 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.

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 анализата, 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 на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном; допускается раздельная упаковка стрипов (по 4 стрипа в пакете)	компл. № 1	компл. № 1/2	компл. № 2
		2 планшета	5 планшетов	1 планшет
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный, содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,5-1,0 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 ⁺ _{слаб})	инактивированный; содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,05 МЕ/мл; 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 ⁻)	инактивированный; прозрачная или со слабой опалесценцией с желтым оттенком различной интенсивности жидкость	1 фл. (2,0 мл)	2 фл. (по 4,0 мл)	1 фл. (1,5 мл)
Конъюгат-1	мышинные антитела к HBsAg, меченые биотином; опалесцирующая жидкость синего цвета	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (3,5 мл)	1 фл. (0,7 мл)
Конъюгат-2	стрептавидин, меченый пероксидазой хрена; прозрачная жидкость слабо-желтого цвета	1 фл. (0,3 мл)	1 фл. (0,75 мл)	1 фл. (0,14 мл)
Раствор для разведения конъюгата-1 (РРК-1)	прозрачная жидкость синего цвета	2 фл. (по 7,0 мл)	5 фл. (по 7,0 мл)	1 фл. (7,0 мл)
Раствор для разведения конъюгата-2 (РРК-2)	прозрачная жидкость красного цвета	2 фл. (по 14 мл)	5 фл. (по 14 мл)	1 фл. (14 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(х25)]	прозрачная или 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. (по 100 мл)	1 фл. (40 мл)
Цитратный буферный раствор, содержащий перекись водорода (ЦБР)	прозрачная бесцветная жидкость.	2 фл. (по 14 мл)	5 фл. (по 14 мл)	1 фл. (14 мл)
Хромоген (ТМБ)	раствор тетраметилбензидина; прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (4,0 мл)	1 фл. (0,8 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (25 мл)	1 фл. (70 мл)	1 фл. (12,5 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.	32 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 (комплекты №№ 1,2) - 4 шт., (комплект №1/2 – 8 шт.

- клейкой пленкой для планшетов (комплекты №№1,2) - 4 шт., (комплект №1/2) - 10 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 №№1-1/2 -2– для скринингового исследования в ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора, открытого типа рассчитаны на исследование 192 образца (комплект №1), 480 образцов (комплект №1/2) и 96 образцов (комплект №2), включая контрольные, предназначены для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 192 (комплект №1), 480 (комплект №1/2) и 96 (комплект №2) определений на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа.

Все комплекты набора реагентов позволяют проводить отдельные исследования 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 исслед. 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 во время первой инкубации взаимодействует с антиHBsAg иммуносорбента. Образовавшийся комплекс "анти-HBs-HBsAg" связывается с антиHBsAg, мечеными биотином (конъюгат-1), с образованием комплекса "анти-HBs-HBsAg-анти-HBs-биотин". Во время второй инкубации стрептавидин, меченный пероксидазой хрена (конъюгат-2), связывается с биотинилированными антителами. Комплекс "анти-HBs-HBsAg-анти-HBs-биотин-стрептавидин-ПХ" выявляется в цветной реакции с хромогеном, результаты которой регистрируются спектрофотометрически.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация HBsAg) – 0,01 МЕ/мл (нг/мл)

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, (СОП_{HBsAg-072}), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП_{HBsAg-072}) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,54% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,70% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,15% - 100%

Плазма крови человека: 99,01% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,52 % - 100%

Плазма крови человека: 99,23% - 100%

Перекрестных иммунологических реакций с ВИЧ, ВГС и ВПГ1,2 в ходе клинических испытаний набора реагентов "ИФА-HBsAg-0,01" не выявлено.

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

Коэффициент вариации не более 8%.

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).

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

Сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека объемом не менее 100 мкл., препараты, приготовленные из крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин). Для исследования образцов альбумина, криопреципитата, интерферона исходные растворы вносить согласно инструкции по применению данного набора, лиофильно высушенные препараты крови предварительно восстановить согласно инструкции по их применению. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием развести ФСБ-Т в соотношении 1:5.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости более длительного хранения образцов сыворотки и плазмы рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать.

При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к снижению качества исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

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 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 $K^{+}_{\text{слаб}}$

За 10 мин до проведения ИФА во флакон с $K^{+}_{\text{слаб}}$ 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 промывочного раствора (ФСБ-Т)

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

При использовании всего 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 рабочего разведения конъюгата-1

Развести конъюгат-1 в РРК-1 в соотношении 1:10.

При дробной постановке использовать для разведения объемы конъюгата-1 и РРК-1, указанные в табл. 2 для заданного числа стрипов.

Таблица 2

Компоненты	Количество используемых стрипов										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Конъюгат-1, мкл	40	80	120	160	200	240	280	320	360	400	440
РРК-1, мл	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4	2,8	3,2	3,6	4,0	4,4

При постановке на целом планшете 0,7 мл конъюгата-1 внести во флакон с 7,0 мл РРК-1 и аккуратно перемешать.

Стабильность рабочего разведения конъюгата-1 при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч.

Приготовление рабочего разведения конъюгата-2

Непосредственно перед использованием развести конъюгат-2 в РРК-2 в соотношении 1:100.

При дробной постановке использовать объемы конъюгата-2 и РРК-2, указанные в табл. 3 для заданного числа стрипов.

Таблица 3

Компоненты	Количество используемых стрипов										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Конъюгат-2, мкл	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

При постановке на целом планшете 0,14 мл конъюгата-2 внести во флакон с 14 мл РРК-2 и аккуратно перемешать.

Стабильность рабочего разведения конъюгата-2 при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч.

Рекомендация: при постановке на одном или двух стрипах конъюгаты удобнее разводить в пробирках типа "эппендорф".

Приготовление субстратно-индикаторного раствора

Развести ТМБ в ЦБР в соотношении 1:20.

Готовить непосредственно перед использованием в защищенном от прямого солнечного света месте.

При дробной постановке использовать объемы ТМБ и ЦБР, указанные в табл. 4 для заданного числа стрипов.

Таблица 4

Реагенты	Количество используемых стрипов										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ТМБ, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550
ЦБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0

При постановке на целом планшете во флакон с 14 мл ЦБР добавить 700 мкл ТМБ и аккуратно перемешать.

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

Приготовление остальных реагентов

K⁺, K⁻, стоп-реагент – готовы к применению.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках 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.

Ручная постановка (комплекты №№ 1, 1/2, 2)

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв 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. В одну лунку (напр., A1) внести 100 мкл K⁺; в одну лунку (напр., B1) – 100 мкл K⁺_{сл}; в три лунки (напр., C1, D1, E1) – по 100 мкл K⁻. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл исследуемых образцов. Во все лунки внести по 50 мкл рабочего раствора конъюгата-1.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 50 мин на шейкере при 44°С (700 об/мин) в защищенном от прямого солнечного света месте..

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет ФСБ-Т, добавляя в каждую лунку не менее 400 мкл раствора. Время между заполнением и аспирацией (замачивание) должно быть не менее 30 сек.

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 минут.

5. Во все лунки внести по 100 мкл свежеприготовленного рабочего разведения конъюгата-2.

6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин на шейкере при 44°C (700 об/мин) в защищенном от прямого солнечного света месте..

7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок; в режиме "Overflow" промыть планшет 5 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной; при невозможности использования режима "Overflow" планшет промыть 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной.

8. Во все лунки внести по 100 мкл субстратно-индикаторного раствора, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 25 мин при температуре от 18 до 25 °C или закрыть чистой клейкой пленкой и выдержать 20 мин при температуре 37°C

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился субстратно-индикаторный раствор) 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 10 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 учитываются при следующих условиях:

среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с K^+ не менее 1,0;

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

среднее значение ОП в лунках с $K^+_{\text{сл}}$ 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 $ОП_{\text{крит}}$.

Все положительные образцы, исследуются с использованием комплекта №3.

Постановка с использованием ИФА-анализаторов (комплекты № 1, 1/2)

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

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. 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 °C 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 °C 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 10 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 с чувствительностью 0,01 МЕ/мл» "ИФА-HBsAg-0,01" соответствует Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора "ИФА-HBsAg-0,01", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, тел/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



С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«24» 01 2022 г.



Т.К. Варнавичус

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
"ИФА-НВsAg-0,01" (компл. № 1, 1/2, 2)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	В лунку A1 внести 100 мкл K ⁺ ; в лунку B1 – 100 мкл K ⁺ _{сл} ; в лунки C1, D1, E1 – по 100 мкл K ⁻ ; в остальные лунки планшета - по 100 мкл исследуемых образцов
Внести	во все лунки по 50 мкл рабочего разведения конъюгата-1
Инкубация	50 мин при 44°C на шейкере (700 об/мин)
Промыть	5 раз ФСБ-Т
Внести	во все лунки по 100 мкл рабочего разведения конъюгата-2
Инкубация	30 мин при 44°C на шейкере (700 об/мин),
Промыть	в режиме "Overflow" – 5 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной без режима "Overflow" – 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной
Внести	по 100 мкл раствора хромогена в каждую лунку
Инкубация	25 мин, 18-25 °C или закрыть чистой клейкой пленкой и выдержать 20 мин, при температуре 37°C.
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

ПРОШУТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ
« 24 » 07 2022 г.
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус ЦК

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
10 лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
« 24 » 07 2022 г.



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор ЗАО "ЭКОлаб"

Т.Ю.Гашенко

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

**«Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания
HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0,01 МЕ/мл»
"ИФА-HBsAg-0,01"**

Комплект № 3

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0,01 МЕ/мл» «ИФА-HBsAg-0,01» 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.

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 на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном; допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)	1 шт.
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный, содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,5-1,0 МЕ/мл; прозрачная или со слабой опалесценцией жидкость с желтым оттенком различной интенсивности	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный слабоположительный образец (K ⁺ _{слаб})	инактивированный; содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,05 МЕ/мл; аморфная масса белого цвета с желтым оттенком, после растворения – опалесцирующая жидкость слабо-желтого цвета	1 фл. (1,0 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный; прозрачная или со слабой опалесценцией с желтым оттенком различной интенсивности жидкость	1 фл. (2,5 мл)
Конъюгат-1	мышинные антитела к HBsAg, меченые биотином; опалесцирующая жидкость синего цвета	1 фл. (0,7 мл)
Конъюгат-2	стрептавидин, меченый пероксидазой хрена; прозрачная жидкость слабо-желтого цвета	1 фл. (0,14 мл)
Раствор для разведения конъюгата-1 (РРК-1)	прозрачная жидкость синего цвета	1 фл. (7,0 мл)
Раствор для разведения конъюгата-2 (РРК-2)	прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (14 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета	1 фл. (15 мл)
Раствор подтверждающего агента (РПА)	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	1 фл. (3,0 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	1 фл. (40 мл)
Цитратный буферный раствор, содержащий перекись водорода (ЦБР)	прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (14 мл)
Хромоген (ТМБ)	раствор тетраметилбензидина; прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	1 фл. (0,8 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (12,5 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		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 №3 – для подтверждающего исследования в неконкурентном и конкурентном ИФА в варианте ручной постановки или с использованием ИФА-анализатора, рассчитан 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

Каждый образец исследуется параллельно в неконкурентном ИФА (без добавления подтверждающего агента) и в конкурентном ИФА (с добавлением подтверждающего агента).

В лунках неконкурентного ИФА при наличии в исследуемых образцах HBsAg образуется, как описано выше, комплекс "анти-HBs-HBsAg-анти-HBs-биотин-стрептавидин-ПХ".

В лунках конкурентного ИФА после добавления РПА HBsAg связывается с антиHBsAg РПА, что подавляет далее образование комплекса "анти-HBs-HBsAg-анти-HBs-биотин-стрептавидин-ПХ" после добавления в реакционную смесь конъюгатов.

Различия в интенсивности цветной реакции в лунках неконкурентного и конкурентного ИФА после добавления субстратно-индикаторного раствора (степень подавления сигнала) регистрируются спектрофотометрически.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация HBsAg) –0,01 МЕ/мл (нг/мл)

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, (СОП_{HBsAg}-072), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП_{HBsAg}-072) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,54% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,70% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,15% - 100%

Плазма крови человека: 99,01% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,52 % - 100%

Плазма крови человека: 99,23% - 100%

Перекрестных иммунологических реакций с ВИЧ, ВГС и ВПГ1,2 в ходе клинических испытаний набора реагентов "ИФА-HBsAg-0,01" не выявлено.

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

Коэффициент вариации не более 8%.

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).

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

Сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека объемом не менее 100 мкл., препараты, приготовленные из крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин). Для исследования образцов альбумина, криопреципитата, интерферона исходные растворы вносить согласно инструкции по применению данного набора, лиофильно высушенные препараты крови предварительно восстановить согласно инструкции по их применению. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием развести ФСБ-Т в соотношении 1:5.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости более длительного хранения образцов сыворотки и плазмы рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать.

При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к снижению качества исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

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 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 до 44°C

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 $K^{+}_{\text{слаб}}$

За 10 мин до проведения ИФА во флакон с $K^{+}_{\text{слаб}}$ 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 промывочного раствора (ФСБ-Т)

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

При использовании всего 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 рабочего разведения конъюгата-1

Развести конъюгат-1 в РРК-1 в соотношении 1:10.

При дробной постановке использовать для разведения объемы конъюгата-1 и РРК-1, указанные в табл. 2 для заданного числа стрипов.

Таблица 2

Компоненты	Количество используемых стрипов										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Конъюгат-1, мкл	40	80	120	160	200	240	280	320	360	400	440
РРК-1, мл	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4	2,8	3,2	3,6	4,0	4,4

При постановке на целом планшете 0,7 мл конъюгата-1 внести во флакон с 7,0 мл РРК-1 и аккуратно перемешать.

Стабильность рабочего разведения конъюгата -1 при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч.

Приготовление рабочего разведения конъюгата-2

Непосредственно перед использованием развести конъюгат-2 в РРК-2 в соотношении 1:100.

При дробной постановке использовать объемы конъюгата-2 и РРК-2, указанные в табл. 3 для заданного числа стрипов.

Таблица 3

Компоненты	Количество используемых стрипов										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Конъюгат-2, мкл	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

При постановке на целом планшете 0,14 мл конъюгата-2 внести во флакон с 14 мл РРК-2 и аккуратно перемешать.

Стабильность рабочего разведения конъюгата-2 при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч.

Рекомендация: при постановке на двух стрипах конъюгаты удобнее разводить в пробирках типа "эппендорф".

Приготовление субстратно-индикаторного раствора

Развести ТМБ в ЦБР в соотношении 1:20.

Готовить непосредственно перед использованием в защищенном от прямого солнечного света месте.

При дробной постановке использовать объемы ТМБ и ЦБР, указанные в табл. 4 для заданного числа стрипов.

Таблица 4

Реагенты	Количество используемых стрипов										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ТМБ, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550
ЦБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0

При постановке на целом планшете во флакон с 14 мл ЦБР добавить 700 мкл ТМБ и аккуратно перемешать.

Стабильность субстратно-индикаторного раствора при температуре от 18 до 25 °С не более 13 ч.

Приготовление остальных реагентов

K⁺, K⁻, РРО, РПА, стоп-реагент – готовы к применению. После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках 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.

РУЧНАЯ ПОСТАНОВКА

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. В нечетную из каждой последующей пары лунок (напр., А1; В1; С1 и т.д.) внести по 50 мкл РРО (для неконкурентного ИФА); в четную (напр., А2; В2; С2 и т.д.) – по 50 мкл РПА (для конкурентного ИФА).

В лунки А1 и А2 внести по 100 мкл K⁺, в лунки В1 и В2 – по 100 мкл K⁺ слаб, в лунки С1 и С2 – по 100 мкл K⁻. В следующие пары лунок (D1 и D2, E1 и E2; F1 и F2 и т.д.) внести по 100 мкл исследуемых образцов.

Во все лунки внести по 50 мкл конъюгата-1.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 50 мин на шейкере при 44°С (700 об/мин) в защищенном от прямого солнечного света месте..

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет ФСБ-Т добавляя в каждую лунку не менее 400 мкл раствора. Время между заполнением и аспирацией (замачивание) должно быть не менее 30 сек.

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 минут.

5. Во все лунки внести по 100 мкл свежеприготовленного рабочего разведения конъюгата-2.

6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин на шейкере при 44°C (700 об/мин) в защищенном от прямого солнечного света месте..

7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок; в режиме "Overflow" промыть планшет 5 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной; при невозможности использования режима "Overflow" планшет промыть 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной.

8. Во все лунки внести по 100 мкл субстратно-индикаторного раствора, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 25 мин при температуре от 18 до 25 °C или закрыть чистой клейкой пленкой и выдержать 20 мин при температуре 37°C.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился субстратно-индикаторный раствор) 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 10 мин).

Регистрация и учет результатов

Учет результатов проводят на спектрофотометре при основной длине волны 450 и волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Рассчитывают ОП_{крит} по формуле

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}(\text{K}^-)_{\text{ср}} + 0,04,$$

где ОП(K⁻)_{ср} – среднее значение ОП в лунках с K⁻ в неконкурентном и конкурентном ИФА;

и рассчитывают для каждого контрольного и исследованного образца процент подавления (ПП) по формуле:

$$\text{ПП} = \frac{\text{ОП}_{\text{неконкур.ИФА}} - \text{ОП}_{\text{конкур.ИФА}}}{\text{ОП}_{\text{неконкур.ИФА}}} \times 100\%.$$

Результаты ИФА учитывают при соблюдении следующих условий:

ОП(K⁻_{неконкур.ИФА}) и ОП(K⁻_{конкур.ИФА}) не более 0,15;

ОП(K⁺_{неконкур.ИФА}) не менее 1,0;

ОП(K⁺_{слаб.неконкур.ИФА}) больше ОП_{крит};

ПП для K⁺ и K⁺_{слаб} больше или равен 50 %.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Исследуемый образец считается положительным (подтвержденным), если ПП для него равен или больше 50 % и ОП в лунке неконкурентного ИФА больше ОП_{крит}.

Исследуемый образец считается неподтвержденным, если ПП для него меньше 50 %. В этом случае образец необходимо развести РРО в 10, 100, 1000 и 10000 раз и повторить анализ. Исследуемый образец оценивают как отрицательный, если для всех разведений ПП меньше 50 %.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. 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 10 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 с чувствительностью 0,01 МЕ/мл» "ИФА-HBsAg-0,01", соответствует Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора «ИФА-HBsAg-0,01», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, тел/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

С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«24» 01 2022 г.



И.К. Варнавичус

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
"ИФА-HBsAg-0,01" компл. № 3

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	в нечетную из каждой последующей пары лунок (A1; B1; C1 и т.д.) – по 50 мкл РРО (для неконкурентного ИФА); в четную (A2; B2; C2 и т.д.) – по 50 мкл РПА (для конкурентного ИФА); в лунки A1 и A2 – по 100 мкл K ⁺ , в лунки B1 и B2 – по 100 мкл K ⁺ _{слаб} , в лунки C1 и C2 – по 100 мкл K ⁻ ; в следующие пары лунок (D1 и D2, E1 и E2; F1 и F2 и т.д.) – по 100 мкл исследуемых образцов
Внести	во все лунки по 50 мкл рабочего разведения конъюгата-1
Инкубация	50 мин., 44 °С – на шейкере (700 об/мин)
Промыть	5 раз ФСБ-Т
Внести	во все лунки по 100 мкл рабочего разведения конъюгата-2
Инкубация	30 мин при 44°C на шейкере (700 об/мин)
Промыть	в режиме "Overflow" – 5 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной без режима "Overflow" – 7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной
Внести	по 100 мкл раствора хромогена в каждую лунку
Инкубация	25 мин, 18-25 °С или закрыть чистой клейкой пленкой и выдержать 20 мин. При температуре 37°C.
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху



ПРОШЕТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

24 » 07 202 2 г.

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

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

10 лист 06

Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
07 2022 г.

