

НАУЧНО – ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ



РОССИЯ г. Нижний Новгород
Почтовый адрес: 603093 ул. Яблоневая, 22, а/я 69
Юридический адрес: 603094 ул. Коминтерна, 47
ИНН 5259000159 КПП 525901001
ОГРН 1025202838627
E-mail: info@npods.nnov.ru
www.npods.ru

Приемная	тел./факс	(831)	434-97-70
Канцелярия	тел./факс	(831)	434-86-83
Бухгалтерия	тел./факс	(831)	434-97-74
Департамент продаж	тел./факс	(831)	467-82-02
			467-82-15
			467-82-16
			467-82-17

REF

B-551



96

Code: 1.0.RU

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg»

Тест-система иммуноферментная
для качественного и количественного определения антител
к поверхностному антигену вируса гепатита В,
набор диагностический

Содержание

I. Назначение.....	3
II. Состав набора «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg».....	3
III. Аналитические и диагностические характеристики.....	4
IV. Меры предосторожности.....	4
V. Инструкции по безопасности.....	5
VI. Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов.....	6
VII. Отбор и подготовка образцов	6
VIII. Подготовка реагентов	6
IX. Проведение анализа	7
X. Учет результатов	10
XI. Срок годности. Условия хранения и транспортирования	11
XII. Объяснение символов.....	12
Приложение 1	13
Приложение 2	14

Набор реагентов выпускается в 1 комплекте:

Комплект рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg» – тест-система иммуноферментная для качественного и количественного определения антител к поверхностному антигену вируса гепатита В с целью специфической диагностики инфекции, определения тяжести течения и прогноза заболевания, для изучения иммунного статуса населения в предвакцинальный период, оценки эффективности вакцинации и иммунного ответа, а также при отборе плазмы крови человека с высоким содержанием анти-HBsAg для приготовления специфических иммуноглобулинов. Интервал линейности тест-системы от 0 до 150 мМЕ/мл. Аналитическая чувствительность набора составляет 1 мМЕ/мл.

II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент – полистироловый разборный планшет, в лунках которого сорбирована смесь рекомбинантных HBs антигенов субтипов ad и ay.	1 планшет
Конъюгат (концентрат х 11) – смесь очищенных плазменных HBs антигенов субтипов ad и ay, конъюгированных с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
РРК (раствор для разведения конъюгата) – опалесцирующая синего цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 флакон 13,0 мл
БР (блокирующий раствор) – для рабочего разведения контрольных и исследуемых образцов. Прозрачная или опалесцирующая фиолетового цвета жидкость.	1 флакон 15,0 мл
K1+ (контрольный положительный образец № 1) – сыворотка (плазма) крови человека, содержащая антитела к HBsAg в концентрации 150 мМЕ/мл, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С, инаktivированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая малиново-красного цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
K2+ (контрольный положительный образец № 2) – сыворотка (плазма) крови человека, содержащая антитела к HBsAg в концентрации 100 мМЕ/мл, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С, инаktivированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая ярко-розового цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
K3+ (контрольный положительный образец № 3) – сыворотка (плазма) крови человека, содержащая антитела к HBsAg в концентрации 50 мМЕ/мл, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С, инаktivированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
K4+ (контрольный положительный образец № 4) – сыворотка (плазма) крови человека, содержащая антитела к HBsAg в концентрации 10 мМЕ/мл, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С, инаktivированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая бледно-розового цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
K0 (контрольный отрицательный образец, 0 мМЕ/мл) – сыворотка (плазма) крови человека, не содержащая антитела к HBsAg, HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С; инаktivированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость.	1 флакон 3,0 мл

ПР (промывочный раствор) – концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл
СБ – субстратный буферный раствор, цитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл
Хромоген ТМБ – раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 2,5 мл
Стоп-реагент – раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл
Крышка к полистироловым 96-луночным планшетами или защитная пленка для ИФА планшетов	1 шт
	2 шт
Пластиковая скрепка или полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock для закрывания пакета с иммуносорбентом	1 шт
Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт
Одноразовые наконечники	16 шт
Бумага миллиметровая	1 шт

Набор комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами. Имеется цветовая кодировка реагентов. Набор упакован в коробку картонную, куда вкладывается инструкция по применению.

III. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ (см. Приложение 1 к данной инструкции).

IV. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.
 - Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
 - Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
 - неспецифических компонентов (ПР, СБ), которые взаимозаменяемы во всех тест-системах производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
 - стоп-реагента, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора (0,75 моль/л или 0,2 моль/л).
- За более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в нашу службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7655, 7647) или по E-mail: info@npods.nnov.ru.
- Перед использованием все реагенты набора выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
 - Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
 - Нельзя проводить тест в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на ферментативную активность конъюгатов.
 - Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
 - Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной или деионизированной. Многократные ванночки для автоматических анализаторов необходимо сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной или деионизированной. Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной или деионизированной.

- Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).
- Ферментная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстратов.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца или реагента.
- Промывка лунок – важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполнены, не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.
- Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Необходимо использовать воду высокого качества.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию тепла или света во время инкубации и хранения.

V. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для диагностики “in vitro”.
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении контрольных образцов (K1+, K2+, K3+, K4+, K0), были протестированы и определены нереактивными в отношении поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антигена р24 ВИЧ-1 и антител к вирусу гепатиту С и ВИЧ-1,2.
- При работе с реагентами набора (K1+, K2+, K3+, K4+, K0) необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы. При распыливании немедленно дезинфицировать поверхность 3% раствором хлорамина Б.
- Необходимо избегать контакта субстратного буфера, хромогена, стоп-реагента с кожей и слизистыми.
- После проведения ферментативной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, пробы и реагенты, содержащие биологические образцы, до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГ/см² (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч), или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГ/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.



х₁

Некоторые реагенты содержат 0,2% проклин 300. Проклин 300 – раздражающее вещество. Может вызвать сенсibilизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

VI. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная или деионизированная.
- Автоматические или полуавтоматические, регулируемые или предварительно устанавливаемые одноканальные или многоканальные пипетки с изменяемым объемом для отбора жидкостей.
- Одноразовые наконечники к пипеткам.
- Инкубатор микропланшетный или термостатируемый шейкер ($37,0 \pm 1,0$) °C.
- Автоматический микропланшетный вошер.
- Градуированные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.
- Микропланшетный ридер с возможностью измерения оптической плотности (ОП) при фильтрах 450 нм и 620-680 нм.

VII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови должен проводиться в соответствии с надлежащей практикой методом венопункции. В качестве исследуемых образцов могут быть использованы сыворотка (плазма) крови человека или препараты крови. Сыворотку от эритроцитов или плазму от сгустка следует отделить как можно быстрее, чтобы избежать гемолиза. Гемолиз может повлиять на рабочие характеристики теста. Образцы, содержащие видимые частицы, следует осветлить центрифугированием до проведения теста. Взвешенные частицы фибрина и агрегаты могут привести к ложноположительным результатам.

Жидкие препараты крови исследовать неразведенными в соответствии с инструкцией по применению данного набора.

Образцы можно хранить в соответствии требованиями существующих нормативных документов. Во избежание осаждения фибрина сыворотку (плазму) следует быстро размораживать в течение нескольких минут при температуре 40 °C в водяной бане. Нельзя использовать сыворотку (плазму), замороженную и размороженную более 3-х раз. Нельзя использовать сыворотку (плазму) загрязненную, с гемолизом или гиперлипидемией.

VIII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты, готовые к применению:

- **Иммуносорбент.** Каждый планшет, состоящий из 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет и вынуть планшет. Взять необходимое количество стрипов. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край фольгированного пакета свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 6 мес при температуре от 2 до 8 °C.
- **K0** – контрольный отрицательный образец;
- **K1+** – контрольный положительный образец № 1;
- **K2+** – контрольный положительный образец № 2;
- **K3+** – контрольный положительный образец № 3;
- **K4+** – контрольный положительный образец № 4;
- **РРК** – раствор для разведения конъюгата;
- **БР** – блокирующий раствор для рабочего разведения контрольных и исследуемых образцов;
- **Стоп-реагент 0,2 М.**

2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

- **Рабочий промывочный раствор (ПР).** Содержимое флакона с концентратом (х 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата (х 25) промывочного раствора развести соответствующим объемом воды дистиллированной или деионизированной (см. табл. 2). Полученный раствор тщательно перемешать. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут при температуре от 18 до 24 °С или 28 сут при температуре от 2 до 8 °С.
- **Рабочий раствор конъюгата.** Необходимое количество РРК перенести в чистый флакон, добавить соответствующее количество концентрата конъюгата (см. табл. 2) и осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Рабочий раствор конъюгата стабилен не менее 12 часов в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С или в течение 2-х недель в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. В РРК допустимо образование осадка.
- **Субстратная смесь (СС).** Развести необходимый объем СБ соответствующим объемом ТМБ (см. табл. 2). Тщательно перемешать до полного растворения. Допустимо хранение СС не более 10 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С в химически чистых емкостях.

3. Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия флаконов и пакета с иммуносорбентом оставшиеся не использованными реагенты: иммуносорбент – хранить не более 6 мес; конъюгат (концентрат х 11), контрольные положительные образцы (K1+, K2+, K3+, K4+), контрольный отрицательный образец (K0), РРК, БР, ПР (концентрат х 25), СБ, ТМБ, стоп-реагент хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, на протяжении срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

IX. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

Необходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых стрипов или планшета представлены в таблице 2.

Таблица 2

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов при ручной постановке ИФА

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная или деионизированная (мл)	Конъюгат (конц. х 11) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
1	4	96	0,1	1,0	1,0	0,1
2	8	192	0,2	2,0	2,0	0,2
3	12	288	0,3	3,0	3,0	0,3
4	16	384	0,4	4,0	4,0	0,4
5	20	480	0,5	5,0	5,0	0,5
6	24	576	0,6	6,0	6,0	0,6
7	28	672	0,7	7,0	7,0	0,7
8	32	768	0,8	8,0	8,0	0,8
9	36	864	0,9	9,0	9,0	0,9
10	40	960	1,0	10,0	10,0	1,0
11	44	1056	1,1	11,0	11,0	1,1
12	48	1152	1,2	12,0	12,0	1,2

Перед использованием иммуносорбент не промывать!

Постановка качественного анализа.

1. Во все лунки планшета внести по 25 мкл БР.

2. Контрольные образцы рекомендуется вносить по следующей схеме в зависимости от количества используемых стрипов:

1 стрип: 1 лунка – 75 мкл K1+, 1 лунка – 75 мкл K4+, 2 лунки по 75 мкл K0;

2 стрипа: 2 лунки по 75 мкл K1+, 2 лунки по 75 мкл K4+, 2 лунки по 75 мкл K0;

3 стрипа и более: 2 лунки по 75 мкл K1+, 2 лунки по 75 мкл K4+, 3 лунки по 75 мкл K0.

В остальные лунки внести по 75 мкл цельных исследуемых образцов сыворотки или плазмы крови. При этом содержимое лунок изменяет свой цвет с фиолетового на сине-зеленый.

3. Внимание! Возможны две процедуры инкубации планшета.

Процедура 1 – термостатируемый шейкер, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$:

3.1. Планшет выдержать 30 мин в термостатируемом шейкере при 500 об/мин и температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.

3.2. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дезинфицирующим раствором с помощью промывочного устройства, планшет промыть 4 раза рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер: осторожно внести рабочий ПР в лунки планшета с помощью промывочного устройства до краев лунок (не менее 400 мкл в лунку), выдержать 40 с, затем удалить промывочный раствор в емкость с дезинфицирующим раствором. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.

3.3. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Планшет выдержать 30 мин в термостатируемом шейкере при 500 об/мин и температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.

3.4. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дезинфицирующим раствором с помощью промывочного устройства, планшет промыть 4 раза рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер, как указано в п. 3.2.

3.5. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл СС и планшет выдержать в течение 25 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 $^\circ\text{C}$.

3.6. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реактанта, содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета и через 1-2 минуты провести учет результатов при основном фильтре 450 нм и референс-фильтре 620-680 нм, используя ридер. Допустим учет результатов при одной длине волны 450 нм.

Процедура 2 – инкубатор микропланшетный $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$:

3.1. После внесения образцов содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета, планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 60 мин в инкубаторе микропланшетном при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.

3.2. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дезинфицирующим раствором с помощью промывочного устройства, планшет промыть 4 раза рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер: осторожно внести рабочий ПР в лунки планшета с помощью промывочного устройства до краев лунок (не менее 400 мкл в лунку), выдержать 40 с, затем удалить промывочный раствор в емкость с дезинфицирующим раствором. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.

3.3. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета, планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 30 мин в инкубаторе микропланшетном при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.

3.4. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дезинфицирующим раствором с помощью промывочного устройства, планшет промыть 4 раза рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер, как указано в п. 3.2.

3.5. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл СС и планшет выдержать в течение 25 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 $^\circ\text{C}$.

3.6. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реагента, содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета и через 1-2 минуты провести учет результатов при основном фильтре 450 нм и референс-фильтре 620-680 нм, используя ридер. Допустим учет результатов при одной длине волны 450 нм.

Далее см. раздел X.

Схема проведения ИФА приведена в Приложении 2.

Постановка количественного анализа.

Количественный анализ следует проводить по результатам качественного анализа. Во все лунки планшета внести по 25 мкл БР.

В 3 лунки иммуносорбента дозатором пипеточным внести по 75 мкл К0, в 2 лунки по 75 мкл К1+, в 2 лунки по 75 мкл К2+, в 2 лунки по 75 мкл К3+, в 2 лунки по 75 мкл К4+. В оставшиеся лунки внести по 75 мкл анализируемых образцов. При этом содержимое лунок изменяет свой цвет с фиолетового на сине-зеленый. Каждый образец внести в две лунки планшета.

Последующие этапы анализа проводить в соответствии с **Процедурой 1** или **Процедурой 2**.

Схема проведения ИФА приведена в Приложении 2.

Постановка на автоматическом анализаторе

Проведение анализа в автоматическом режиме на автоматическом анализаторе типа «TECAN Freedom EVOLyzer» производства фирмы «TECAN», Швейцария (возможна постановка на других ИФА – анализаторов открытого типа).

Таблица 3

Расход реагентов набора на один планшет при постановке ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		Субстратная смесь	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная или деионизированная (мл)	Конъюгат (конц. х 11) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
12	48,0	1152,0	1,2	12,0	12,0	1,2

1. Задать программу проведения ИФА и включить анализатор.

2. Приготовленный рабочий промывочный раствор залить в предназначенную для него емкость (входящую в комплект к ИФА-анализатору), остальные рабочие растворы и реагенты поместить в специальные контейнеры или емкости. Флаконы с контрольными образцами К1+, К2+, К3+, К4+ и К0 а также флаконы или пробирки с исследуемыми образцами в объеме не менее 300 мкл установить в соответствующие штативы анализатора. В анализатор поместить необходимое количество планшетов. Далее постановку проводить в соответствии с инструкцией по применению ИФА-анализатора и программой проведения ИФА.

3. По окончании анализа прибор выдает протокол по результатам исследования, в котором дается характеристика каждого исследуемого образца и контрольных образцов К1+, К2+, К3+, К4+ и К0. Далее учет результатов проводить согласно разделу X.

Спектрофотометрический контроль внесения сывороток и реагентов при постановке тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-НВsAg» на автоматических ИФА-анализаторах:

1. Контроль внесения образца рекомендуется проводить при длине волны 620 нм, критерий: ОП > 0,380.

2. Контроль внесения конъюгата рекомендуется проводить при длине волны 620 нм, критерий: ОП > 0,588.

3. Контроль внесения СС рекомендуется проводить при длине волны 405 нм, критерий: ОП > 0,050.

Х. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Результаты качественного анализа.

Реакцию следует учитывать, если среднее значение оптической плотности (ОП ср.) в лунках с K1+ не менее 1,2.

$$\text{ОП крит.} = \text{Среднее значение ОП (K4+)}$$

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если $\text{ОП} \geq \text{ОП крит.}$

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные: если $\text{ОП} < \text{ОП крит.}$ (Такие образцы количественному анализу не подлежат).

2. Результаты количественного анализа.

Реакцию следует учитывать, если среднее значение оптической плотности (ОП ср.) в лунках с K1+ не менее 1,2.

Полученные результаты отношений ОП контрольных образцов должны соответствовать следующим требованиям:

$$\text{ОП ср K1+} > \text{ОП ср K2+} > \text{ОП ср K3+} > \text{ОП ср K4+} > \text{ОП ср K0}$$

Количество анти-HBsAg определить по графику, построенному на основании величин оптической плотности контрольных образцов.

На миллиметровой бумаге отложить на оси ординат (OY) средние значения величин оптической плотности контрольного отрицательного образца и контрольных положительных образцов, на оси абсцисс (OX) – концентрацию анти-HBsAg в этих образцах, выраженную в мМЕ/мл. По полученным точкам провести калибровочную кривую.

В качестве примера на рис.1 приведена стандартная кривая, которая используется для определения концентрации анти-HBsAg по значениям ОП каждого контрольного положительного образца.

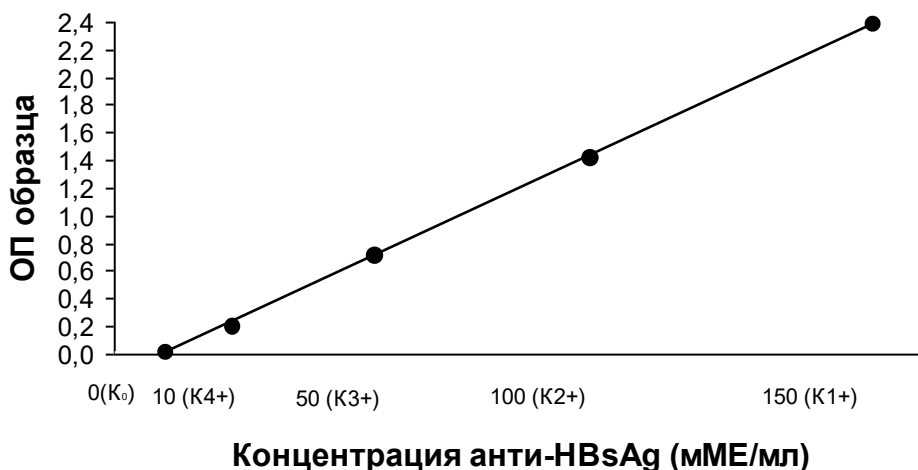


Рис.1 – Калибровочная кривая для определения концентрации анти-HBsAg в исследуемом образце

Для определения концентрации анти-HBsAg в исследуемом образце на оси ординат следует отметить среднее значение ОП анализируемого образца, провести прямую линию до пересечения с калибровочной кривой и из точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. Точка пересечения перпендикуляра с осью абсцисс будет соответствовать концентрации анти-HBsAg в исследуемом образце, выраженной в мМЕ/мл.

Если полученная концентрация анти-HBsAg в образце превышает 150 мМЕ/мл, то образец рекомендуется предварительно развести в 10 и более раз блокирующим раствором (БР) (90 мкл БР и 10 мкл сыворотки (плазмы)) и анализировать повторно как цельный образец, учитывая при расчете фактор разведения.

XI. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности указан на упаковке набора. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

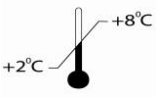
Транспортирование – при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование от 9 до 20 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

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

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставление:

1. Рекламационного набора,
2. Всех образцов кроводач пациента,
3. Протоколов исследований с использованием других методов с указанием серии, сроков годности,
4. Протоколов исследований с использованием референтных тестов с указанием серии, сроков годности.

XII. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
	Каталожный номер
	Количество определений
	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности число/месяц/год
	Использовать инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество
Code: X.X.XX	Идентификационный код

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность

Для оценки аналитической чувствительности тест-системы использовался «Второй международный стандарт (анти-HBs)», Национальный институт биологических стандартов и контроля, Великобритания, код 07/164. Аналитическая чувствительность теста 1 мМЕ/мл.

Диагностическая чувствительность

При тестировании предварительно охарактеризованных в тесте сравнения анти-HBsAg позитивных образцов (171 образец плазмы и сыворотки крови) процент совпадения составил 97,6%.

Специфичность

Специфичность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg» определяли при тестировании предварительно охарактеризованных в тесте сравнения анти-HBsAg негативных образцов (n=158). Процент совпадения составил 99,4%.

Была протестирована панель, состоящая из:

- 132 образцов сывороток крови здоровых доноров;
- 13 образцов сывороток крови, взятых от беременных женщин;
- 13 образцов сывороток крови клинических пациентов с различными инфекционными заболеваниями (гепатит А, С, цитомегаловирусная инфекция).

Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Исследуемые категории	Количество образцов	Количество ложнопозитивных образцов	Специфичность, %
Здоровые доноры	132	1	99,24
Беременные женщины	13	0	100
Клинические пациенты с различными инфекционными заболеваниями (гепатит А, С, цитомегаловирусная инфекция)	13	0	100
Итого	158	1	99,4

Точность

Внутриплашечная воспроизводимость была оценена при тестировании 3 положительных образцов в 25 повторах в рамках одной серии. Коэффициент вариации составил не более 7%.

Внутрисерийная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов в 25 повторах на наборах реагентов одной и той же серии. Коэффициент вариации составил не более 9%.

Межсерийная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов в 25 повторах на наборах реагентов 3-х серий. Коэффициент вариации составил не более 10%.

СХЕМА АНАЛИЗА

1	Внести	По 25 мкл БР	
2	Внести	По 75 мкл контрольных образцов	
3	Внести	По 75 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы)	
4	Инкубировать	Процедура 1 30 мин, термошейкер, (37,0 ± 1,0) °С, 500 об/мин	Процедура 2 60 мин, инкубатор микропланшетный, (37,0 ± 1,0) °С
5	Промыть планшет	Рабочий ПР, не менее 400 мкл, 4 раза	
6	Внести	По 100 мкл рабочего раствора конъюгата	
7	Инкубировать	Процедура 1 30 мин, термошейкер, (37,0 ± 1,0) °С, 500 об/мин	Процедура 2 30 мин, инкубатор микропланшетный, (37,0 ± 1,0) °С
8	Промыть планшет	Рабочий ПР, не менее 400 мкл, 4 раза	
9	Внести	По 100 мкл СС	
10	Инкубировать	25 мин, 18-24 °С, в защищенном от света месте	
11	Внести	По 150 мкл стоп-реагента	
12	Учет результатов	450 нм/620-680 нм или 450 нм	

