





<b>REF</b>	<b>B-431</b>		<b>200</b>
<b>REF</b>	<b>B-432</b>		<b>800</b>

## І Н С Т Р У К Ц І Я по застосуванню набору реагентів «ДСУ-ЕРІТРО-НВsAg»

Склад набору:

СЕ (сенсibilізовані еритроцити), ліофілізовані – формалінізовані курячі еритроцити, сенсibilізовані козячими антитілами проти НВsAg;

К+ (контрольний позитивний зразок), ліофілізований - цілісна сироватка крові людини, що містить НВsAg, яка не містить антиген ВІЛ-1 (p24), антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована;

ІГ-1 – імуноглобуліни 1 (контрольний реагент), ліофілізовані - імуноглобуліни кози, що не містять антитіла до НВsAg;

ІГ-2 – імуноглобуліни 2 (нейтралізує реагент), ліофілізовані - імуноглобуліни кози, що містять антитіла до НВsAg.

Набір випускається в двох комплектах:

комплект 1 розрахований на проведення 200 визначень, включаючи контрольні;

комплект 2 - на проведення 800 визначень, включаючи контрольні.

### Опис реагентів:

СЕ- суха пориста гігроскопічна маса коричневого кольору;

К+ - суха пориста гігроскопічна маса білого або світло-жовтого кольору;

ІГ-1 - суха пориста гігроскопічна маса блакитного кольору;

ІГ-2 - суха пориста гігроскопічна маса рожевого кольору.

### Призначення.

Виявлення поверхневого антигену вірусу гепатиту В в сироватці крові людини при оцінці динаміки захворювання вірусним гепатитом В і контролі за проведеною терапією гепатиту В.

**НЕ ВИКОРИСТОВУЄТЬСЯ ДЛЯ СКРИНІНГУ КРОВІ ДОНОРІВ.**

Чутливість діагностикуму – 10 МЕ/мл.

### Заходи безпеки.

Для виготовлення контрольного зразка набору використана термоінактивована сироватка. При роботі з набором в лабораторії з досліджуваними зразками сироваток крові людини поводитись, як з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках, в спецодязі, не піпетувати ротом. Тверді відходи (використані планшети, наконечники до піпетки, флакони (пробірки) з-під реагентів, лабораторний посуд і т.д.) знезаражувати зануренням в 6% розчин перекису водню з 0,5% синтетичного мийного засобу (СМС) або в 3% розчин хлораміну Б, або інший дозволений до застосування дезінфікуючий засіб. Тривалість дезактивації - не менше 1 г. Тверді відходи можна знешкоджувати автоклавуванням протягом години при температурі від 124 до 128 ° С під тиском 1,5 кГс/см<sup>2</sup> (0,15 МПа). Рідкі відходи (промивні води) знешкоджувати додаванням сухого хлораміну Б з розрахунку 30 г/л (тривалість дезактивації - не менше 2 год) або кип'ятінням протягом 30 хв, або в автоклаві протягом 1 год під тиском 1,5 кГс/см<sup>2</sup> (0, 15 МПа) і температурі від 124 до 128 ° С. Інструменти і обладнання до і після роботи необхідно протирати 2 рази 70% етиловим спиртом.

### Спосіб застосування.

Не можна використовувати реагенти з наборів різних серій або змішувати їх в процесі приготування розчинів, а також використовувати набір після закінчення терміну придатності!

Перед використанням всі реагенти набору витримати 30 хв при температурі від 20 до 24 ° С.

Всі розчини необхідно відбирати новими одноразовими наконечниками, не допускати торкання рідини в наконечнику краєм дозатора!

Для відбору проб використовувати калібровані дозатори піпеточні з похибкою вимірювання не більше 5%.

### 1. Перелік обладнання, матеріалів і реактивів, необхідних для постановки РОПГА і РНА.

1. Піпетки напівавтоматичні одноканальні із змінним обсягом дозування відбору рідин: на 5-50 мкл; на 40-200 мкл; на 200-1000 мкл; на 1000-5000 мкл з наконечниками;

2. Піпетка напівавтоматична восьмиканальна, що дозволяє відбирати об'єми рідини до 300 мкл з наконечниками;
3. Вода дистильована;
4. Папір фільтрувальний лабораторний;
5. Рукавички гумові або пластикові.

## **2. Приготування робочих розчинів**

### **Всі розчини необхідно відбирати одноразовими наконечниками.**

Ізотонічний розчин натрію хлориду (до складу набору не входить). Навіску 0,9 г натрію хлориду внести в мірну колбу з 99,10 мл води дистильованої і ретельно перемішати до повного розчинення солі. Використовувати для постановки негативного контролю і для регідратації компонентів імунодіагностикуму. Перед використанням розчин витримати протягом 30 хв при температурі від 20 до 24 ° С.

СЕ – сенсibiliзовані еритроцити. Вміст флакона (пробірки) з ліофілізованими СЕ розвести додаванням 1,25 мл (комплект 1) або 3,0 мл (комплект 2) ізотонічного розчину натрію хлориду за 1 год до початку постановки РОПГА. Розчин перед вживанням необхідно ресуспендувати до отримання гомогенної суспензії.

Регідратовані СЕ представляють собою гомогенну суспензію червонувато-коричневого кольору, при відстоюванні протягом 2-3 г розшаровується на недосадочну рідину, прозору з жовтуватим відтінком, і гомогенний осад червонувато-коричневого кольору.

Розчинений компонент, що залишився невикористаним допускається зберігати протягом 5 діб при температурі від 2 до 8 ° С.

К+ – контрольний позитивний зразок. Вміст флакона (пробірки) з ліофілізованим К + розвести додаванням 1,25 мл (комплект 1) або 3,0 мл (комплект 2) ізотонічного розчину натрію хлориду.

Регідратований К + - прозора або злегка опалесціюча рідина безбарвна або світло-жовтого кольору.

Залишки невикористаного розчиненого компоненту допускається зберігати протягом 5 діб при температурі від 2 до 8 ° С.

ІГ-1 – імуноглобуліни кози, що не містять антитіла до HBsAg. Вміст флакона (пробірки) з ліофілізованими ІГ-1 розвести додаванням 1,25 мл (комплект 1) або 3,0 мл (комплект 2) ізотонічного розчину натрію хлориду.

Регідратовані ІГ-1 - прозора рідина блакитного кольору.

Залишок невикористаного розчиненого компоненту допускається зберігати протягом 5 діб при температурі від 2 до 8 ° С.

ІГ-2 - імуноглобуліни кози, що містять антитіла до HBsAg. Вміст флакона (пробірки) з ліофілізованими ІГ-2 розвести додаванням 1,25 мл (комплект 1) або 3,0 мл (комплект 2) ізотонічного розчину натрію хлориду.

Регідратовані ІГ-2 - прозора рідина рожевого кольору.

Залишки невикористаного розчиненого компоненту допускається зберігати протягом 5 діб при температурі від 2 до 8 ° С.

## **3. Підготовка досліджуваних зразків.**

Для запобігання хибних результатів досліджуваних зразки необхідно відбирати і зберігати в умовах, що запобігають бактеріальному проросту. Відібрані зразки слід зберігати не більше 48 год при температурі від 2 до 8 ° С. Більш тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 15 ° С із заморожуванням-розморожуванням не більше 1 разу. Дослідження зразків з вираженим бактеріальним проростанням, гемолізом і гіперліпідемією не допускається, т. як. може дати неправильний результат. Зразки сироватки крові, які містять агрегати або осад, необхідно освітлювати центрифугуванням.

При проведенні РОПГА досліджуваних сироваток попередньо розвести в 8 разів фізіологічним розчином натрію хлориду (25 мкл сироватки + 200 мкл ізотонічного розчину натрію хлориду).

При проведенні РНА використовувати цільні зразки.

## **4. Проведення РОПГА.**

У 2 лунки планшета з V або U образним профілем дна дозатором піпетковим внести по 25,0 мкл К +, в 1 лунку - 25,0 мкл ізотонічного розчину натрію хлориду (в якості негативного контролю). В інші лунки внести по 25,0 мкл досліджуваних сироваток, попередньо розведених у 8 разів. Далі, в лунки планшета зі зразками дозатором піпетковим внести по 25,0 мкл суспензії СЕ. Вміст лунок ретельно перемішати обережним постукуванням по краю планшета не менше 30 с. Планшет витримати протягом 30 хв при температурі від 20 до 24 ° С.

## **5. Облік результатів.**

Облік результатів провести візуально в умовах інтенсивного освітлення, розташовуючи джерело освітлення під планшетом. При цьому планшет повинен знаходитися на горизонтальній поверхні з білим фоном.

Візуальна оцінка виявляє два ступені аглютинації (повна або часткова) або відсутність аглютинації:

«+» – повна аглютинація - рівномірно розподілений по дну і стінок лунки осад еритроцитів у вигляді «парасольки» з рівними краями.

«±» – часткова аглютинація - пухкий з фестончастими краями осад еритроцитів у вигляді «парасольки», що займає 1/3 і більше площі лунки, в центрі можливе утворення слабо вираженою точки.

«-» – відсутність аглютинації - на дні лунки утворюється щільний осад еритроцитів у вигляді точки або маленького кола (останнє, найчастіше спостерігається при використанні планшетів з U-подібним профілем дна лунок), або пухкий з фестончастими краями осад еритроцитів, що займає менше 1/3 площі лунки, в центрі можливе утворення вираженої точки.

Реакцію враховувати, якщо в лунці з К + спостерігається «+» - повна аглютинація, а в лунці з негативним контролем «-» - відсутність аглютинації.

Позитивними вважати зразки, в лунках з якими спостерігається «+» - повна аглютинація або «±» – часткова

аглотинація, негативними вважати зразки, в лунках з якими спостерігається «-» - відсутність аглотинації.  
Сироватки, позитивні в РОПГА, підлягають підтвердженню в реакції нейтралізації антигену - РНА.

### 6. Проведення РНА.

У лунках планшета варіодозатором піпетковим приготувати послідовно два ряди дворазових розведень досліджуваної сироватки від 1: 2 до 1: 2048 відповідно до наведеної схеми постановки (див. Таблицю 1).

Один ряд розведень досліджуваної сироватки приготувати на ІГ-1, другий ряд цієї ж сироватки - на ІГ-2 (схема постановки для ІГ-2 така ж, як для ІГ-1).

Таблиця 1

**Схема постановки реакції нейтралізації**

№ лунки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Розведення сироватки	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	негативний контроль
ІГ-1 (мкл)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Сироватка (мкл)	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25 мкл ізотонічного розчину
Перенесення розведеної сироватки (мкл)	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	скидання

Після приготування розведень, планшет витримати не менше 30 хв при температурі від 20 до 24 ° С для нейтралізації НВsAg антитілами, що містяться в ІГ-2, потім додати по 25 мкл суспензії СЕ в усі лунки з розведеннями сироватки і негативним контролем.

Вміст лунок ретельно перемішати обережним постукуванням по краю планшета, не менше 30 с. Планшет витримати 20-30 хв при температурі від 20 до 24 ° С.

Результати реакції вважати позитивними, якщо ІГ-2 викликає, принаймні, 4-х кратне зниження титру досліджуваної сироватки, в порівнянні з ІГ-1. У разі, коли у всіх лунках з розведенням сироватки спостерігається аглотинація, сироватку необхідно попередньо розвести в 100 разів фізіологічним розчином натрію хлориду (0,025 мл сироватки + 2,5 мл ізотонічного розчину натрію хлориду) і повторити титрування на планшеті на ІГ-1 та ІГ- 2.

### Форма випуску

Імунодіагностикум випускають у вигляді набору (комплекти 1 і 2):

	Комплект 1	Комплект 2
СЕ, ліофілізовані - (обсяг розчинника вказано на етикетці) - у флаконі або в пробірці.	7 шт.	12 шт.
К+, інактивованій, ліофілізований - (обсяг розчинника вказано на етикетці) - у флаконі або в пробірці.	1 шт.	2 шт.
ІГ-1, ліофілізовані - (обсяг розчинника вказано на етикетці) - у флаконі або в пробірці.	2 шт.	3 шт.
ІГ-2, ліофілізовані - (обсяг розчинника вказано на етикетці) - у флаконі або в пробірці.	2 шт.	3 шт.

Реагенти поміщають в коробку картонну, куди вкладають інструкцію із застосування.

### Термін придатності. Умови транспортування та зберігання.

Термін придатності набору - 12 міс.

Після закінчення терміну придатності набір використанню не підлягає.

Транспортування наборів повинно проводитися при температурі від 2 до 8 ° С. Припустимо транспортування при температурі від 9 до 20 ° С не більше 14 діб. Заморожування не допускається.

Набір повинен зберігатися в сухому, захищеному від світла місці при температурі від 2 до 8 ° С.

**Умова відпустки** - для діагностики «in vitro». Для лікувально-профілактичних і санітарно-профілактичних установ. Потенційний ризик застосування набору - перелік А.

Рекламації на специфічні й фізичні властивості набору направляти на адресу підприємства-виробника – ТОВ «Діагностичні системи Україна», Україна, 04107, Київ, вул. Багговутівська, б. 8/10, тел. 044 361 55 76 E-mail: ua@npods.ru

 UA.TR.XXX	Знак відповідності		-«Увага»,
	Не допускати впливу сонячного світла		Берегти від вологи