



REF В-653  96

REF В-650  192

І Н С Т Р У К Ц І Я
по застосуванню набору реагентів
«ДСУ-ІФА-АНТИ-НВс»
Тест-система імуноферментна для виявлення
антитіл до core-антигену вірусу гепатиту В

Склад набору:

Імуносорбент – core-антиген вірусу гепатиту В (НВсAg), рекомбінантний білок, гомологічний core - антигену вірусу гепатиту В, сорбований на стріпах полістиролового 96-лункового планшета розбірного;

Кон'югат (концентрат x 21), рідкий – глобулінова фракція сироватки крові людини, що містить антитіла до core-антигену вірусу гепатиту В (анти-НВс), кон'юговані з пероксидазою хрому;

К+ (позитивний контрольний зразок), рідкий – сироватка крові людини, що містить антитіла до core-антигену вірусу гепатиту В (НВсAg), не містить НВсAg, антитіла до ВІЛ-1,2 і до вірусу гепатиту С, інактивована;

К- (негативний контрольний зразок), рідкий – сироватка крові людини, що не містить НВсAg, антитіла до НВсAg, до ВІЛ-1,2, до вірусу гепатиту С, інактивована;

ПР (концентрат x 25) – промивний розчин для промивання імуносорбенту і розведення концентрату кон'югату;

СБ - субстратний буферний розчин;

ТМБ - хромоген - 3,3',5,5'-тетраметилбензидин, рідкий;

Стоп-реагент – 0,75 М водний розчин сірчаної кислоти.

Набір випускається в двох комплектах:

комплект № 1 розрахований на проведення 96 (один розбірний планшет) визначень, включаючи контрольні, призначений для ручної постановки з можливістю дробового (по одному стріпу) використання набору або для одночасної постановки 96 визначень на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу;

комплект № 2 розрахований на проведення 192 (два розбірних планшета) визначень, включаючи контрольні, призначений для ручної постановки з можливістю дробового (по одному стріпу) використання набору або для одночасної постановки 96 визначень на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу.

Опис набору реагентів:

Імуносорбент – розбірний 96-лунковий полістироловий планшет з прозорими безбарвними лунками;

Кон'югат (концентрат x 21) - прозора або злегка опалесцююча блакитного кольору рідина;

К+ (позитивний контрольний зразок) - прозора або злегка опалесцююча червоного кольору рідина;

К- (негативний контрольний зразок) - прозора або злегка опалесцююча зеленого кольору рідина;

ПР (концентрат x 25) промивний розчин - прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина, допустимо утворення осаду, повністю яка розчиняється при температурі від 35 до 39 С і струшуванні;

СБ - прозора безбарвна рідина;

ТМБ - прозора безбарвна рідина;

Стоп-реагент - прозора безбарвна рідина.

Призначення

Набір призначений для виявлення антитіл до core-антигену вірусу гепатиту В у сироватці (плазмі) крові людини.

Заходи безпеки

Нестерильний медичний виріб для діагностики *in vitro*. Потенційний ризик застосування набору - перелік А. Для виготовлення контрольних зразків набору використані термоінактивовані сироватки. При роботі з набором в лабораторії з досліджуваними зразками сироваток (плазми) крові людини поводитися, як з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках, в спецодязі, не піпетувати ротом. Тверді відходи (використані планшети, наконечники одноразові для дозаторів піпеточних, флакони з-під реагентів, лабораторний посуд і т. д.) знезаражувати зануренням у 6% розчин перекису водню з 0,5% синтетичного миючого засобу (СМС) або в 3% розчин хлораміну Б або іншого дозволеного до застосування дезінфікуючого засобу. Тривалість дезактивації - не менше 1 год. Тверді відходи можна знешкоджувати автоклавуванням протягом години при температурі від 124 до 128 °С під тиском 1,5 кгс/см² (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 автоклавуванням протягом 1 години під тиском 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) і температурі від 124 до 128 °С. Інструменти та 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 реагенти після закінчення терміну придатності!

Перед використанням всі реагенти набору витримати 30 хв при температурі від 18 до 24 °С. **Увага!** Імуносорбент необхідно витримати в закритому пакеті щоб уникнути конденсації вологи в лунках планшета.

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

Для відбору проб використовувати калібровані піпетки змінного об'єму (одно - і багатоканальні) з похибкою вимірювання не більше 5%.

Посуд для роботи з субстратною сумішшю (ванночки, флакони тощо) у разі повторного використання необхідно відразу після роботи промити 70% розчином етилового спирту, а потім дистильованою водою.

1. Перелік обладнання, матеріалів та реактивів, необхідних для постановки ІФА.

1. Спектрофотометр вертикального сканування, що дозволяє вимірювати оптичну густину розчину в лунках планшета при довжинах хвиль 450 нм і 620-680 нм.

2. Піпетки змінного об'єму (одно - і багатоканальні).

3. Одноразові наконечники для піпеток змінного об'єму.

4. Термостат.

5. Пристрій для промивання планшетів (вошер).

6. Автоматичний аналізатор для імуноферментного аналізу відкритого типу.

7. Вода дистильована.

8. Папір фільтрувальний лабораторний.

9. Рукавички медичні.

2. Приготування робочих розчинів.

Обсяги реагентів для проведення аналізу на необхідну кількість стрипів приведені в таблицях № 1 та 2.

Таблиця 1

Витрати реагентів набору при постановці ІФА на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу

Кількість використуваних стрипів	Робочий промивний розчин		Робочий розчин кон'югату		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистильована (мл)	Кон'югат (конц. х 21) (мл)	Робочий ПР (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
12	40,0	960,0	0,400	8,0	0,65	13,0

Витрата реагентів набору в залежності від кількості використовуваних стрипів при ручній постановці ІФА

Кількість використовуваних стрипів	Робочий промивний розчин		Робочий розчин кон'югату		СС	
	ПР (конц. x 25) (мл)	Вода дистильована (мл)	Кон'югат (конц. x 21) (мл)	Робочий ПР (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
1	3,0	72,0	0,025	0,5	0,05	1,0
2	6,0	144,0	0,050	1,0	0,10	2,0
3	9,0	216,0	0,075	1,5	0,15	3,0
4	12,0	288,0	0,100	2,0	0,20	4,0
5	15,0	360,0	0,125	2,5	0,25	5,0
6	18,0	432,0	0,150	3,0	0,30	6,0
7	21,0	504,0	0,175	3,5	0,35	7,0
8	24,0	576,0	0,200	4,0	0,40	8,0
9	27,0	648,0	0,225	4,5	0,45	9,0
10	30,0	720,0	0,250	5,0	0,50	10,0
11	33,0	792,0	0,275	5,5	0,55	11,0
12	40,0	960,0	0,400	8,0	0,65	13,0

ПР - робочий промивний розчин. Вміст флакону з концентратом промивного розчину ретельно перемішати. Для приготування робочого розчину для промивання необхідну кількість концентрату промивного розчину відібрати в окрему ємність і додати відповідну кількість води дистильованої (згідно з табл. № 1 і 2). Отриманий розчин ретельно перемішати.

Зберігання: робочий промивний розчин зберігати не більше 3-х діб при температурі від 2 до 8 °С.

К- - контрольний негативний зразок, готовий до застосування.

К+ - контрольний позитивний зразок, готовий до застосування.

Кон'югат, робочий розчин готувати перед використанням. Необхідну кількість робочого ПР перенести в чисту ємність, додати відповідну кількість ретельно перемішаного концентрату кон'югату (згідно з табл. № 1 і 2) і обережно перемішати, не допускаючи спінювання (інтенсивне перемішування не застосовувати!).

Зберігання: робочий розчин кон'югату стабільний не більше 12 год в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.

ТМБ - хромоген - 3,3',5,5'-тетраметилбензидин для приготування субстратної суміші, готовий до застосування. Перед використанням вміст флакона ретельно перемішати.

СБ - субстратний буферний розчин для приготування субстратної суміші, готовий до застосування. Перед використанням вміст флакона ретельно перемішати.

СС - субстратна суміш, готувати перед використанням. Необхідний обсяг ТМБ розвести відповідним обсягом СБ (згідно з табл. № 1 і 2), ретельно перемішати до повного розчинення.

Зберігання: допустимо зберігання СС не більше 10 год в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С в хімічно чистих флаконах або спеціальній ємності, призначеної для постановки ІФА на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу.

Субстратна суміш повинна бути безбарвною!

Стоп – реагент - готовий до застосування.

Зберігання: після відкриття флаконів, які залишилися невикористаними реагенти набору (ПР (концентрат x 25), кон'югат (концентрат x 21), К-, К+, СБ, ТМБ, стоп-реагент) зберігати у флаконах, закритих гвинтовими кришками, протягом терміну придатності набору при температурі від 2 до 8 °С.

3. Підготовка досліджуваних зразків.

Для виключення помилкових результатів не можна піддавати досліджувані зразки термоінактивуванню, необхідно відбирати і зберігати їх в умовах, що запобігають бактеріальний ріст. Кожен зразок сироватки слід відбирати новим наконечником! Відібрані зразки зберігати не більше 3 діб при температурі від 2 °С до 8 °С. Більш тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 20 °С (зразки можуть піддаватися заморожуванню і відтаванню не більше 1 разу). Дослідження зразків з вираженим бактеріальним ростом, гемолізом і гіперліпідемією не допускається, оскільки може дати неправильний результат. Зразки сироватки (плазми) крові, що містять агрегати або осад, необхідно освітлювати центрифугуванням.

4. Проведення ІФА при ручній постановці.

4.1. Розкрити фольгований пакет з імуносорбентом, відступивши 1,0 см від краю пакета. Вийняти з пакета рамку і необхідну кількість стрипів. Пакет з невикористаними стрипами і силікагелем ретельно герметизувати. Після першого відкриття пакета імуносорбент стабільний протягом 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С.

4.2. В 1 лунку імуносорбенту піпеткою змінного об'єму внести по 50 мкл К+, у 3 лунки - по 50 мкл К-. В інші лунки внести по 50 мкл досліджуваних зразків сироваток. У всі лунки стрипів внести по 50 мкл робочого розчину кон'югату. Вміст лунок ретельно перемішати обережним постукуванням по краю планшета. Планшет покрити кришкою або захисною плівкою і витримати в термостаті протягом 1 год при температурі $(37,0 \pm 0,5)$ °С.

4.3. Після закінчення зазначеного часу видалити вміст лунок в контейнер для збору інфікованого матеріалу (акуратно, з допомогою вошера або багатоканальної піпетки), планшет промити 4 рази робочим ПР, заливаючи його до країв лунок (від 380 до 400 мкл в лунку), витримуючи 40 с і видаляючи промивний розчин у ємність для збору інфікованого матеріалу.

4.4. У всі лунки стрипів внести по 100 мкл СС і витримати планшет 30 хв. в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.

4.5. Реакцію зупинити додаванням в лунки по 50 мкл стоп-реагенту, вміст лунок ретельно перемішати обережним постукуванням по краю планшета і провести облік результатів.

5. Облік результатів.

Облік результатів провести спектрофотометрично при двох довжинах хвиль – 450 нм і при референс-довжині хвилі в діапазоні від 620 до 680 нм з налаштуванням приладу по «повітрю». Припустимо облік результатів при одній довжині хвилі 450 нм.

Реакцію враховують, якщо значення оптичної густини (ОП) в лунці з К+ - не більше 0,2, а середнє значення ОП розчинів в лунках з К- - не менш 1,4.

Позитивним вважають зразок зі значенням ОП, рівним або менше ОП критичного (ОП крит.).

Негативним вважають зразок зі значенням ОП більш ОП крит.

ОП крит. розраховують за формулою:

$$\text{ОП крит.} = (\text{ср. знач. ОП К-} \times A) - B,$$

де А, В – коефіцієнти, що визначаються методом статистичної обробки результатів постановки ІФА на підприємстві-виробнику, величину якого вказують для кожної серії в інструкції по застосуванню, що вкладається в коробку з набором і в паспорті на серію даного препарату*.

* «Для набору серії № 032XXX коефіцієнт А=0,5; В=0,500».

6. Проведення ІФА в автоматичному режимі на автоматичному аналізаторі типу «TECAN Freedom EVOlyzer» виробництва фірми «TECAN», Швейцарія (можлива постановка на інших моделях ІФА-аналізаторів відкритого типу)

- Задають програму проведення ІФА та включають аналізатор.
- Приготований робочий промивний розчин заливають в призначену для нього ємність (входить в комплект до ІФА-аналізатору), інші робочі розчини і реагенти поміщають у спеціальні контейнери або ємності. Флакони з контрольними зразками К+ та К-, і флакони або пробірки зі зразками досліджуваних сироваток в обсязі не менше 300 мкл встановлюють відповідні штативи аналізатора. У аналізатор поміщають необхідну кількість планшетів. Далі постановку проводять у відповідності з інструкцією щодо застосування ІФА-аналізатора і програмою проведення ІФА.
- По закінченні аналізу прилад видає протокол за результатами дослідження, в якому дається характеристика кожного досліджуваного зразка і контрольних зразків К+ і К-.
- Реакцію враховують, якщо середнє значення оптичної густини (ОП) в лунках з К+ не більше 0,2, а середнє значення ОП розчинів в лунках з К- - не менш 1,4. Далі облік результатів проводити аналогічно п.5.

Форма випуску

	Комплект 1	Комплект 2
Імуносорбент	1 шт.	2 шт.
Кон'югат (концентрат х 21)	0,5 мл -1 фл.	1,0 мл -1 фл.
К+	2,0 мл - 1 фл.	2,0 мл - 1 фл.
К-	2,5 мл -1 фл.	2,5 мл -1 фл.
ПР (концентрат х 25)	50,0 мл - 1 фл.	80,0 мл -1 фл.
ТМБ	1,5 мл -1 фл.	1,5 мл -1 фл.
СБ	15,0 мл -1 фл.	15,0 мл - 2 фл.
Стоп-реагент	25,0 мл -1 фл.	25,0 мл 1 фл.

Реагенти поміщають у картонну коробку або пакет поліетиленовий, куди вкладають інструкцію по застосуванню.

Додатково в комплект постачання можуть бути включені:

- кришка до полістиролових 96-лункових планшетів або захисна плівка для ІФА планшетів – 1 шт або 2 шт.
- одноразові наконечники – 16 шт або 32 шт.
- пластикова ванночка для рідких реагентів - 2 шт або 4 шт.
- пластикова скріпка для закривання пакета з імуносорбентом або поліетиленовий пакет з замком zip-lock - 1 шт.

Термін придатності. Умови транспортування та зберігання.

Термін придатності набору - 12 місяців

Після закінчення терміну придатності набір використанню не підлягає.


Транспортування наборів повинно проводитися при температурі від 2 до 8 °С. Допустимо транспортування при температурі від 9 до 20 °С не більше 10 діб. Заморожування не допускається.

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

Умова відпустки - Для лікувально-профілактичних і санітарно-профілактичних установ.

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

Пояснення символів

	Медичний виріб для діагностики in vitro		Термін придатності (дата закінчення терміну придатності в форматі YYYY-MM-DD)
	Виробник		Зверніться до інструкції по застосуванню
	Номер за каталогом		Температурний діапазон
	Вмісту досить для проведення n-кількості тестів (кількість визначень)		Не допускати впливу сонячного світла
	Код партії (номер серії)		Берегти від вологи
	Дата виготовлення (YYYY-MM)		Увага
 UA.TR.116	Знак відповідності		