

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ВЫЯВЛЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО АНТИГЕНА ВИРУСА ГЕПАТИТА В (HBsAg) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «HBsAg-ИФА»

## 1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

### 1.1. Назначение.

Набор реагентов для иммуноферментного выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови «HBsAg-ИФА» предназначен для качественного выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

### 1.2. Введение.

HBsAg – основной маркер инфицирования вирусным гепатитом В – является структурным белком, отвечающим за адсорбцию вируса на гепатоцитах. Это первый маркер, который проявляется в крови через 3–5 недель от момента инфицирования, до появления клинических симптомов, и при остром гепатите определяется еще в течение нескольких месяцев в достаточно высоких концентрациях. При благоприятном течении болезни HBsAg исчезает через 4–6 месяцев после заражения. Если этого не происходит, диагностируют хронический гепатит. Концентрация HBsAg в сыворотке (плазме) крови больных вирусным гепатитом В может колебаться в широком диапазоне – от нанограммов до сотен микрограммов на миллилитр. Элиминация HBsAg из кровотока считается основным критерием выздоровления пациента.

Среди лабораторных методов определения HBsAg наиболее распространенным и высокочувствительным является ИФА.

**1.3.** Функциональное назначение – Набор «HBsAg-ИФА» предназначен для диагностики вируса гепатита В (HBsAg) в образцах сыворотки (плазмы) крови человека, для всех групп населения.

**1.4.** Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

**1.5.** Набор предназначен для диагностики ин витро.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

**2.1.** Набор реагентов «HBsAg-ИФА» выпускается в 3 вариантах комплектации:

Комплект 1 рассчитан на 96 определений, включая контроли.

Комплект 2 рассчитан на 192 определения, включая контроли.

Комплект 5 рассчитан на 480 определений, включая контроли.

## КОМПЛЕКТНОСТЬ:

Символ	Состав	Описание	Количество компонентов		
			96 анализов	192 анализа	480 анализов
SORB MTP	Планшет 96-луночный	полистироловый, стрипированный, на внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антитела к HBsAg, готов к использованию.	1 шт	2 шт	5 шт
CONTROL-	Отрицательный контроль	инактивирован, на основе сыворотки крови человека, не содержащей HBsAg, бесцветная жидкость, готов к использованию.	1 флакон (3.0 мл)	1 флакон (3.0 мл)	1 флакон (6.0 мл)
CONTROL Ag+	Положительный контроль Ag+	инактивирован, на основе сыворотки крови человека, содержащей HBsAg, прозрачная окрашенная жидкость (цвет компонента указан в аналитическом паспорте), готов к использованию.	1 флакон (1.0 мл)	1 флакон (1.0 мл)	1 флакон (2.0 мл)
CONTROL Ag++	Положительный контроль Ag++	инактивирован, на основе сыворотки крови человека, содержащей HBsAg, прозрачная окрашенная жидкость (цвет компонента указан в аналитическом паспорте), готов к использованию.	1 флакон (1.0 мл)	1 флакон (1.0 мл)	1 флакон (2.0мл)
CONJ HRP	Конъюгат В	прозрачная окрашенная жидкость (цвет компонента указан в аналитическом паспорте), готов к использованию.	1 флакон (4.0 мл)	1 флакон (8.0 мл)	1 флакон (20 мл)
CONJ BIOTIN 11X	Концентрат конъюгата А	прозрачная окрашенная жидкость (цвет компонента указан в аналитическом паспорте), 11-кратный концентрат	1 флакон (0.5 мл)	1 флакон (1.0 мл)	1 флакон (2.5 мл)
DIL CONJ	Буфер для разведения концентрата конъюгата А	прозрачная окрашенная жидкость (цвет компонента указан в аналитическом паспорте), готов к использованию.	1 флакон (5.0 мл)	1 флакон (10 мл)	1 флакон (25 мл)
SUBS TMB	Субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ)	прозрачная бесцветная жидкость, готов к использованию.	1 флакон (14 мл)	1 флакон (30 мл)	2 флакона (30 мл)
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора	прозрачная бесцветная жидкость, 26-кратный концентрат	1 флакон (22 мл)	1 флакон (50 мл)	2 флакона (50 мл)
STOP	Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость, готов к использованию.	1 флакон (14 мл)	1 флакон (30 мл)	2 флакона (30 мл)
N003	Бумага для заклеивания планшета		2 шт	4 шт	10 шт
K009IR	Инструкция по применению		1 шт	1 шт	1 шт
K009IQ	Паспорт контроля качества (аналитический паспорт)		1 шт	1 шт	1 шт

## 2.2. Принцип работы Набора.

Выявление HBsAg в сыворотке (плазме) крови основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антитела к HBsAg. При добавлении в лунки планшета исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови и биотинилированных антител к HBsAg (конъюгат А), происходит связывание сорбированных на твердой фазе антител и биотинилированных антител с HBsAg в исследуемом образце. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена (конъюгат В). В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с субстратным раствором тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию HBsAg в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови. Содержание HBsAg в сыворотке (плазме) крови рассчитывается по формуле, приведенной в Инструкции по применению.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 3.1. Аналитическая чувствительность.

Минимальная достоверно выявляемая концентрация поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), по процедуре 1 – 0.01 МЕ/мл, по процедуре 2 – 0.05 МЕ/мл.

### 3.2. Аналитическая специфичность.

Сыворотки (плазмы) крови от пациентов с различными инфекциями были протестированы с помощью Набора «HBsAg-ИФА». Ни одна из испытанных проб не показала наличие перекрёстной реактивности.

Предполагаемые влияющие факторы	Перекрёстная реакция
Антитела к вирусу гепатита С	отсутствует
Антитела к ВИЧ 1,2 и антигену р24 ВИЧ-1	отсутствует
<i>Treponema pallidum</i>	отсутствует
<i>E.coli</i>	отсутствует
Высокое содержание ревматоидного фактора	отсутствует

### 3.3. Воспроизводимость.

Внутрисерийный коэффициент вариации выявления HBsAg в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора реагентов «HBsAg-ИФА» не превышает 6.0%.

Межсерийный коэффициент вариации выявления HBsAg в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора реагентов «HBsAg-ИФА» не превышает 7.0%.

### 3.4. Специфичность.

При проверке на панели предприятия, состоящей из нативных образцов, достоверно не содержащих HBsAg, диагностическая специфичность Набора реагентов «HBsAg-ИФА» составляет 100%.

### 3.5. Чувствительность.

При проверке на панели предприятия, состоящей из нативных образцов, достоверно содержащих HBsAg, диагностическая чувствительность Набора реагентов «HBsAg-ИФА» составляет 100%.

### 3.6. Интерференция.

На результаты анализа не оказывало влияния использование антикоагулянтов ЭДТА, гепарина и цитрата натрия, а также присутствие гемоглобина, триглицеридов, холестерина, билирубина и общего белка в концентрациях, не превышающих нормальные клинические значения.

3.7. Метрологическая прослеживаемость осуществлялась с использованием международного эталонного образца с известным содержанием HBsAg (WHO International Standard, code 12/226).

### 3.8. Клиническая проверка.

Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 2000 положительных образцах сывороток и плазм крови от 500 пациентов с выявленным поверхностным антигеном вируса гепатита В (HBsAg), показали 100% чувствительность (2000/2000 интервал 98.0-100% с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 2000 отрицательных образцах сывороток и плазм крови от 500 условно здоровых пациентов и пациентов с выявленными острыми инфекционными процессами, не относящимися к определяемой группе, показали 100% специфичность (2000/2000 интервал 99.0-100% с доверительной вероятностью 95%).

#### 4. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

- 4.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 3.
- 4.2.** Сыворотки крови человека, входящие в состав набора (положительные контроли Ag+, Ag++ и отрицательный контроль), инаktivированы и не содержат антител к вирусу гепатита С, антитела к ВИЧ 1, 2 и антигену р24 ВИЧ-1, отрицательный контроль также не содержит антиген вируса гепатита В (HBsAg).
- 4.3.** Набор предназначен только для профессионального применения.
- 4.4.** Все компоненты Набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.
- 4.5.** При работе с Набором необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток), так как образцы сыворотки или плазмы крови следует рассматривать как потенциально инфицированный биоматериал.
- 4.6.** Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». При работе с Набором требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».
- 4.7.** Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).
- 4.8.** Все отмывочные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.
- 4.9.** Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер, обеззараживать и утилизировать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
- 4.10.** Лабораторную посуду многократного использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество ИФА.
- 4.11.** Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70% раствором этилового спирта.
- 4.12.** При использовании согласно инструкции по применению изделие является безопасным (не несет физических, экологических и иных рисков).
- 4.13.** Набор реагентов «HBsAg-ИФА» не содержит лекарственных средств для медицинского применения.
- 4.14.** Показания к применению медицинского изделия: применять в соответствии с назначением.
- 4.15.** Противопоказания к применению медицинского изделия: Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет. Не применять не по назначению.

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунки планшета при длине волны 450 (620-700) нм;
- орбитальный термостатируемый шейкер (встряхиватель) для микропланшет, скорость 600–900 об/мин, поддерживающий температуру  $+37^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  или  $+42^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ ;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\pm 3^{\circ}\text{C}$ ;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода бидистиллированная (или деионизованная);
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве анализируемого образца используется сыворотка (плазма) крови.

### 6.1. Процедура получения анализируемого материала.

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венепункции, соблюдая стандартные лабораторные процедуры. Для анализа использовать неразведённую сыворотку (плазму) крови.

### 6.2. Подготовка анализируемых образцов.

Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка. Выбор пробирок для получения сыворотки или плазмы, подготовку, центрифугирование, хранение и транспортировку образца производить согласно правилам проведения преаналитического этапа, утвержденным для лаборатории. Рекомендуемое соотношение антикоагулянта и биоматериала, а также способы подготовки образца и режимы центрифугирования описаны в инструкции по применению пробирок, используемых лабораторией.

#### 6.2.1. Приготовление анализируемых образцов сывороток крови пациентов.

Кровь отобрать венепункцией, дать полностью свернуться, отделить сыворотку центрифугированием при комнатной температуре.

#### 6.2.2. Приготовление анализируемых образцов плазмы.

Сбор крови производить в пробирки содержащие антикоагулянты, согласно утвержденной процедуре сбора плазмы. В качестве антикоагулянтов использовать ЭДТА, гепарин и цитрат натрия.

**6.3.** Если анализ проводится не в день взятия, образцы сыворотки, плазмы крови, следует хранить при температуре  $+2...+8^{\circ}\text{C}$  не более 7 суток или при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  не более 2 месяцев.

Допускается однократное размораживание/замораживание образцов.

Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

**6.4.** Образцы с гемолизом, гиперлипидемией или бактериальным проростом исследованию не подлежат, а также исследуемые образцы, содержащие азид натрия в качестве консерванта.

**6.5.** Перед проведением анализа исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови, следует выдержать при комнатной температуре  $+18...+25^{\circ}\text{C}$  не менее 30 мин.

## 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

**7.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре +18...+25 °С не менее 30 мин.

### 7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов.

Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета.

### 7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора +25 мл дистиллированной (деионизованной) воды).

### 7.4. Приготовление конъюгата А.

Развести концентрат конъюгата А в 11 раз буфером для разведения концентрата конъюгата А.

Пример: на 1 стрип (8 лунок) потребуется 330 мкл конъюгата А: 30 мкл концентрата конъюгата А + 300 мкл буфера для разведения концентрата конъюгата А.

### 7.5. Таблица расхода реагентов:

Количество стрипов	Отмывочный раствор		Концентрат конъюгата А		КОНЪЮГАТ В, мл	Субстратный раствор тетраметилбензидина, мл
	BUF WASH 26X, мл	Вода дистиллированная, мл	CONJ-BIOTIN 11X, мл	DIL CONJ, мл		
1	1.5	37.5	0.03	0.3	0.25	0.8
2	3.0	75	0.06	0.6	0.50	1.6
3	4.5	112.5	0.09	0.9	0.75	2.4
4	6.0	150	0.12	1.2	1.0	3.2
5	7.5	187.5	0.15	1.5	1.25	4.0
6	9.0	225	0.18	1.8	1.50	4.8
7	10.5	262.5	0.21	2.1	1.75	5.6
8	12	300	0.24	2.4	2.0	6.4
9	13.5	337.5	0.27	2.7	2.25	7.2
10	15	375	0.30	3.0	2.50	8.0
11	16.5	412.5	0.33	3.3	2.75	8.8
12	18	450	0.36	3.6	3.0	9.6

## 8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### 8.1. Проведение анализа по процедуре 1.

**8.1.1.** Поместите в рамку необходимое количество стрипов: 5 лунок для контрольных сывороток (3 лунки для отрицательного контроля и по одной лунке для каждого положительного контроля (Ag+, Ag++), лунки для анализа исследуемых образцов.

**8.1.2.** Внесите в соответствующие лунки по 100 мкл отрицательного контроля, положительного контроля Ag+ и положительного контроля Ag++. В остальные лунки внесите по 100 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение контрольных сывороток и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.

**8.1.3.** Внесите во все лунки по 30 мкл конъюгата А. При внесении конъюгата А недопустимо касаться наконечниками стенок лунок или их содержимого.

**8.1.4.** Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 40 минут при температуре +42 °С и постоянном встряхивании со скоростью 800–900 об/мин или 60 мин при температуре +37 °С и постоянном встряхивании со скоростью 800–900 об/мин.

Обратите внимание на работу термощейкера – образцы не должны попадать на защитную пленку вследствие слишком интенсивного перемешивания, если это происходит уменьшите скорость перемешивания.

**8.1.5.** Внесите во все лунки по 30 мкл конъюгата В.

**8.1.6.** Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 15 минут при температуре +42 °С и постоянном встряхивании со скоростью 800–900 об/мин или 20 минут при температуре +37 °С и постоянном встряхивании со скоростью 800–900 об/мин.

**8.1.7.** По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки планшета 7 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки не менее 400 мкл отмывочного раствора, требуется задержка при отмывке (замачивание лунок), время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок. По окончании промывки остатки влаги удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**8.1.8.** Внесите во все лунки по 100 мкл субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ). Внесение субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ) в лунки планшета необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при температуре +42 °С в течение 15 минут или при температуре +37 °С в течение 20 минут.

**8.1.9.** Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

**8.1.10.** Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм и референс светофильтре 620–700 нм. Допускается измерение ОП при одной длине волны - 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 минут после внесения стоп-реагента. Допускается измерение ОП содержимого лунок планшета не позднее 40 минут при хранении планшета при температуре +2...+8 °С. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

### 8.2. Проведение анализа по процедуре 2.

**8.2.1.** Поместите в рамку необходимое количество стрипов: 5 лунок для контрольных сывороток (3 лунки для отрицательного контроля и по одной лунке для каждого положительного контроля (Ag+, Ag++), лунки для анализа исследуемых образцов.

**8.2.2.** Внесите в соответствующие лунки по 100 мкл отрицательного контроля, положительного контроля Ag+ и положительного контроля Ag++. В остальные лунки внесите по 100 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение контрольных сывороток и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.

**8.2.3.** Внесите во все лунки по 30 мкл конъюгата А. При внесении конъюгата А недопустимо касаться наконечниками стенок лунок или их содержимого.

**8.2.4.** Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте планшет в течение 60 минут при температуре +37 °С.

**8.2.5.** Внесите во все лунки по 30 мкл конъюгата В.

**8.2.6.** Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте планшет в течение 60 минут при температуре +37 °С.

**8.2.7.** По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки планшета 7 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки не менее 400 мкл отмывочного раствора, требуется задержка при отмывке (замачивание лунок), время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок. По окончании промывки остатки влаги удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**8.2.8.** Внесите во все лунки по 100 мкл субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ). Внесение субстратного раствора тетраметилбензидина в лунки планшета необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при температуре +37 °С в течение 20 минут.

**8.2.9.** Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

**8.2.10.** Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм и референс светофильтре 620–700 нм. Допускается измерение ОП при одной длине волны - 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 минут после внесения стоп-реагента. Допускается измерение ОП содержимого лунок планшета не позднее 40 минут при хранении планшета при температуре +2...+8 °С. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

**9.1.** Рассчитайте среднюю ОП отрицательной контрольной сыворотки:

$$\text{ОП (CN009Z)Cp} = \{\text{ОП1(CN009Z)} + \text{ОП2(CN009Z)} + \text{ОП3(CN009Z)}\}/3$$

Результаты анализа считать достоверными, если:

- ОП положительного контроля Ag+ не ниже 0.2 оптических единиц (ОЕ);
- ОП положительного контроля Ag++ не ниже 1.0 оптических единиц (ОЕ);
- ОП отрицательного контроля не выше 0.12 оптических единиц (ОЕ).

**9.2.** Рассчитайте уровень граничного значения (Cut off) для этого к среднему значению ОП отрицательного контроля прибавьте коэффициент А. Значение коэффициента А указано в паспорте контроля качества (аналитический паспорт).

**9.3.** Рассчитайте индекс позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off :

$$\text{ИП} = \text{ОПобразца}/\text{Cut off}$$

## 10. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При ОП образца < Cut off – образец отрицательный.

При ОП образца > Cut off – образец положительный,

При ОП образца = Cut off – образец неопределенный.

Такие образцы следует исследовать повторно в двух лунках. При получении положительного результата хотя бы в одной лунке образцы считать положительными.

## 11. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ВНЕСЕНИЯ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

**11.1.** Определение правильности внесения исследуемых образцов и контрольных сывороток.

После внесения контрольных сывороток и исследуемых образцов в лунки планшета возможно верифицировать факт правильного дозирования и отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) на длине волны 450 нм. Все лунки с внесенными образцами или контрольными сыворотками должны иметь значение ОП >0.07 (450 нм).

**11.2. Определение правильности внесения конъюгата А.**

После внесения, конъюгата А возможно верифицировать факт правильного дозирования и отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) на длине волны 450 нм с референсом 620 нм. Все лунки с внесенным конъюгатом А должны иметь значение ОП >0.3 (450/620 нм).

**11.3. Определение правильности внесения конъюгата В.**

После внесения конъюгата В возможно верифицировать факт правильного дозирования и отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) при длине волны 450 нм. Все лунки с внесенным конъюгатом В должны иметь значение ОП>0.3 (450 нм).

**11.4. Определение правильности внесения субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ).**

После внесения субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ) возможно верифицировать факт правильного дозирования или отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) при длине волны 492 нм. Все лунки с внесенным субстратным раствором тетраметилбензидина (ТМБ) должны иметь значение ОП>0.06 (492 нм).



## 12. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

**12.1.** Набор реагентов «НВsAg-ИФА» предназначен для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста.

**12.2.** Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

## 13. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Информация, об особенностях транспортирования должна учитываться всеми лицами, участвующими в хранении, перевозке и утилизации (уничтожении) этого изделия.

### 13.1. Транспортирование.

**13.1.1.** Транспортирование Набора реагентов «НВsAg-ИФА» должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при температуре +2...+8 °С. Допускается транспортировка Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

**13.1.2.** Транспортирование изделий при температурах, требующих соблюдения «Холодовой цепи», обеспечивающей сохранность температурного режима, должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой или в авторефрижераторах с использованием термоминдикаторов.

**13.1.3.** Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

### 13.2. Хранение.

Хранение изделий и/или компонентов при температуре от +2...+8 °С должно осуществляться в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежечасной регистрацией температуры. Хранение светочувствительных изделий и/или компонентов должно осуществляться в темном месте.

**13.2.1.** Набор реагентов «НВsAg-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого Набора.

**13.2.2.** В случае дробного использования набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

- конъюгат В, концентрат конъюгата А, буфер для разведения концентрата конъюгата А, субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- положительные контроли (Ag+, Ag++) и отрицательный контроль после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

- приготовленный отмывочный раствор хранить при температуре +2...+8 °С не более 45 суток, допускается хранение при комнатной температуре +18...+25 °С не более 15 суток.

- приготовленный раствор конъюгата А, хранить при комнатной температуре +18...+25 °С не более 5 часов или при температуре +2...+8 °С не более 12 часов.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

**13.2.3.** Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

**13.2.4.** Срок годности Набора реагентов «НВsAg-ИФА» - 24 месяца.

### 13.3. Эксплуатация.

Все варианты комплектаций набора предназначены для ручной постановки и для постановки на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа с возможностью, как дробного использования планшета (набора), так и для постановки целого планшета (набора). Общее количество повторов определяется квалификацией персонала и рекомендациями GLP.

Рекомендуется постановка исследуемых образцов в дубликатах. Разрешается проведение анализа в монопликатах. Производитель гарантирует сохранение всех технических характеристик Набора и достоверность результатов.

Потенциальный потребитель – врачи клиничко-диагностических лабораторий. Профессиональная квалификационная группа «Врачи и провизоры» всех уровней (Приказ №526 от 06.08.2007 г «Об утверждении профессиональных квалификационных групп должностей медицинских и фармацевтических работников»).

Медицинский персонал клиничко-диагностических лабораторий должен иметь документированное подтверждение проведенного обучения, связанного с потенциальным риском, сочетающимся с работой с любым медицинским (клиническим) лабораторным устройством.

**13.3.1.** При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать Набор после окончания срока годности;
- не использовать Набор реагентов, если упаковка повреждена;
- не смешивать компоненты наборов разных серий, кроме унифицированных неспецифических реагентов (концентрат отмывочного раствора, стоп-реагент, субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ));
- тщательно перемешивать реагенты при подготовке и проведении анализа;
- использовать для приготовления реагентов химически чистую посуду, обработанную дистиллированной водой;
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку;
- исключить прямое воздействие солнечных лучей на планшет во время проведения исследования;
- не допускать присутствия паров перекиси водорода и хлора в помещении при проведении иммуноферментного анализа;
- после использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой;

**13.3.2.** Не допускается использование положительных контролей (Ag+, Ag++), если раствор во флаконе мутный, наблюдается осадок или неприятный запах.

**13.3.3.** Все компоненты Набора реагентов «HBsAg-ИФА» при соблюдении требований данной Инструкции стабильны в течение всего срока годности. Срок годности набора указан на внешней стороне упаковки.

**13.3.4.** Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры проведения анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

**13.3.5.** Не использовать компоненты из других Наборов.

**13.3.6.** Разрешается проведение анализа в монопликатах. Производитель гарантирует сохранение всех технических характеристик Набора реагентов «HBsAg-ИФА» и достоверность результатов.

**13.3.7.** Изделия и/или компоненты Набора реагентов «HBsAg-ИФА» ремонту и техническому обслуживанию не подлежат.

### 13.4. Утилизация.

**13.4.1.** Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

**13.4.2.** Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

**13.4.3.** Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

Предприятие-изготовитель гарантирует стабильность компонентов и Набора «HBsAg-ИФА», а также соответствие Набора «HBsAg-ИФА» требованиям Технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.