

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Тест-система імуноферментна для виявлення та підтвердження е-антигену вірусу гепатита В
«HBe-антиген-БЕСТ»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «HBe-антиген-БЕСТ» призначений для виявлення Е-антигену вірусу гепатиту В (HBeAg) в сироватці (плазмі) крові.

Набір реагентів може бути використаний в клінічних дослідженнях для діагностики гепатиту В, визначення активності інфекційного процесу, прогнозування результату інфекції.

2. ПРИНЦИП МЕТОДУ

Метод визначення заснований на твердофазному імуноферментному аналізі.

3. СКЛАД НАБОРУ

- планшет розбірний з іммобілізованими моноклональними антитілами до HBeAg - 1 шт.
- позитивний контрольний зразок, інактивований (К+) - 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (К-) - 1 фл.;
- кон'югат - 1 фл.;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину з твіном (ФСБ-Т × 25) - 1 фл.;
- розчин тетраметілбензідіна (розчин ТМБ) - 1 фл.;
- стоп-реагент - 1 фл.;

Набір може додатково комплектуватися ванночками для реактивів, наконечниками для піпеток, плівкою для заклеювання планшетів.

4. АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфічність становить 100%.

Чутливість становить 100%.

5. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не піпетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

6. ОБЛАДНАННЯ І МАТЕРІАЛИ:

Фотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5-3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

7. АНАЛІЗУЄМІ ЗРАЗКИ

Зразки сироватки (плазми) крові можна зберігати при температурі від 2 до 8 ° С не більше 5 діб за умови відсутності мікробної контамінації або при температурі мінус 20 ° С (і нижче) не більше 3 міс. Допускається одноразове заморожування / відтавання зразків. Після розморожування зразки слід ретельно перемішати.

8. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ

8.1. Перед проведенням аналізу досліджувані зразки і всі компоненти набору, в тому числі і запечатаний пакет з планшетом, слід витримати при температурі від 18 до 25 ° С не менше 60 хв.

8.2. Негативний контрольний зразок, позитивний контрольний зразок, слабопозитивний контрольний зразок, кон'югат № 1, кон'югат № 2, розчин ТМБ і стоп-реагент готові до використання.

8.3. ПРАВИЛА РОБОТИ ПРИ ДРОБОВОМУ ВИКОРИСТАННІ НАБОРУ

8.3.1. Розчини з флаконів відбирати лише одноразовими індивідуальними наконечниками для піпеток.

8.3.2. Після відбору частини вмісту флакони відразу щільно закрити загвинчуються кришками, помістити в холодильник і зберігати при 2-8 ° С протягом усього терміну придатності набору.

8.4. ПІДГОТОВКА ПЛАНШЕТУ

Розкрити пакет вище замку і встановити на рамку необхідні для проведення аналізу кількість стрипів.

Решта невикористані стрипи негайно помістити знову в пакет з вологопоглиначем, видалити з нього повітря, щільно закрити замок і помістити в холодильник.

Зберігання: при температурі від 2 до 8 ° С протягом усього терміну придатності.

8.5. ПРИГОТУВАННЯ РОЗЧИНУ ДЛЯ ПРОМИВАННЯ

Промивний розчин приготувати розведенням вихідного концентрату фосфатно-сольового буферного розчину з твіном в 25

разів. Для цього відповідно до числа використовуваних стріпів (див.таблицю витрати компонентів набору реагентів) внести в мірний циліндр необхідну кількість концентрату ФСБ-Т і довести до відповідного об'єму дистильованою водою. При випаданні осаду солей в концентраті необхідно прогріти його при температурі від 30 до 40 ° С до повного розчинення осаду.
Зберігання: не більше 5 діб при 2-8 ° С.

8.6. ПІДГОТОВКА КОН'ЮГАТУ

Відповідно до кількості стріпів, які використовуються (див. таблицю витрати компонентів) відібрати в чистий флакон або в пластикову ванночку для реагенту необхідну кількість кон'югату . Залишки кон'югату з флакона або ванночки утилізувати (не зливати у флакон з вихідним кон'югатом).

8.7. ПІДГОТОВКА РОЗЧИНУ ТМБ

Відповідно до кількості стріпів, які використовуються (див. таблицю витрати компонентів) відібрати в чистий флакон або в пластикову ванночку для реагенту необхідну кількість розчину ТМБ. Залишки розчину ТМБ з флакона або ванночки утилізувати (не зливати у флакон з вихідним розчином ТМБ).

9. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

9.1. Внести контрольні зразки:

- 1 лунка - 50 мкл К +;
- 2 лунки - по 50 мкл К-.

Наприклад, в лунки А-1 і В-1 внести по 50 мкл К-; в лунку С-1 - 50 мкл К +.

В інші лунки внести по 50 мкл досліджуваних зразків.

Час внесення зразків не повинен перевищувати 10 хв.при використанні всіх лунок планшета.

9.2. Внести в лунки по 100 мкл кон'югату (п. 8.6.)

Відрізати липку плівку необхідного розміру. Закрити лунки, щільно притиснувши плівку. Інкубувати в термостаті 1 год при температурі 37 ° С або 30 хв при температурі 37 ° С в термошейкері орбітального типу з інтенсивністю перемішування 700 об / хв.

9.3.Після закінчення інкубації зняти липку плівку і помістити її в посудину з дезинфікуючим розчином. За допомогою промивного пристрою промити лунки планшета 5 разів розчином для промивання (п. 8.5.), Чергуючи аспірацію і негайне заповнення лунок кожного стріпу. У кожен лунку вносити не менш 400 мкл рідини в процесі кожного циклу промивання. Час між заповненням і спорожненням лунок повинно бути не менше 30 сек. Необхідно добиватися повного спорожнення лунок після кожного їх заповнення.

Після закінчення промивання залишки вологи з лунок ретельно видалити, постукуючи перевернутим планшетом по фільтрувальному папері.

9.4. Внести до всіх лунок планшета по 100 мкл розчину ТМБ (п. 8.7.). Планшет помістити в захищене від світла місце і витримати протягом 25 хв при температурі 18-25 ° С.

Для внесення розчину ТМБ використовувати пластикову ванночку і одноразові наконечники, що входять до складу набору.

9.5. Зупиніть реакцію додаванням в лунки по 100 мкл стоп-реагенту.

10. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти величину оптичної густини на спектрофотометрі в двохвильовому режимі: основний фільтр - 450 нм, референс-фільтр - в діапазоні 620-655 нм. Допустима також реєстрація тільки з фільтром 450 нм.

Час між зупинкою реакції і вимірюванням оптичної щільності не має перевищувати 5 хв.

11. РОЗРАХУНКИ І ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

11.1. Розрахувати середнє значення оптичної густини у лунках з негативним контрольним зразком - ОГ_{сер. К-}.

11.2. На підставі отриманих даних обчислити критичне значення оптичної густини (ОГ_{крит.}) за формулою:

$$\text{ОГ}_{\text{крит.}} = \text{ОГ}_{\text{сер.К-}} + 0,2$$

12. ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

12.1. Середнє значення оптичної густини у лунках з негативним контрольним зразком не повинно перевищувати 0,15 од. ОГ. Значення оптичної густини в лунці з позитивним контрольним зразком повинно бути не менше 1,0 од. ОГ .

12.2. Результат аналізу вважати позитивним, якщо ОГ зразка \geq ОГ_{крит.}, де ОГ зразка . - Оптична густина в лунці з досліджуваним зразком.

Результат аналізу вважати негативним, якщо ОГ зразка менше ОГ_{крит.}

12.3. При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображають зміну концентрації НВеAg в крові, необхідно використовувати набори реагентів одного найменування (одного підприємства-виробника).

13. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ЗАСТОСУВАННЯ НАБОРУ

Набори зберігати і транспортувати при (2-8)°С. Допускається транспортування при температурі до 25°С не більше 10 діб.

Не допускати заморожування!

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:
04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9,
тел./факс: (044) 500-57-11
e-mail: info@bestdiagnostic.com.ua

Виробник залишає за собою право вразі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.

Таблиця витрати компонентів набору реагентів

Кількість використуваних стрипів	Кон'югат , мл	Розчин ТМБ, мл	Промиваючий розчин	
			ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистильована вода, мл
1	1,0	1,0	2,0	до 50
2	2,0	2,0	4,0	до 100
3	3,0	3,0	6,0	до 150
4	4,0	4,0	8,0	до 200
5	5,0	5,0	10,0	до 250
6	6,0	6,0	12,0	до 300
7	7,0	7,0	14,0	до 350
8	8,0	8,0	16,0	до 400
9	9,0	9,0	18,0	до 450
10	10,0	10,0	20,0	до 500
11	11,0	11,0	22,0	до 550
12	12,0	12,0	24,0	до 600