

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення імуноглобулінів класу G
до HBe-антигену вірусу гепатиту B
«HBe-антитіла-БЕСТ»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

1.1. Набір реагентів «ВектоHBe-IgG» призначений для виявлення імуноглобулінів класу G (IgG) до HBe-антигену вірусу гепатиту B (HBeAg) у сироватці (плазмі) крові методом імуноферментного аналізу.

2. СКЛАД НАБОРУ

- планшет розбірний з іммобілізованим рекомбінантним HBe-антигеном - 1 шт.
- позитивний контрольний зразок, інактивований (K+) - 1 фл.;
- слабопозитивний контрольний зразок, інактивований (K+ слабкий.) - 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (K-) - 1 фл.
- кон'югат моноклональних антитіл до IgG людини, мічених пероксидазою хрому - 1 фл.;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину з твін (ФСБ-Т × 25) - 2 фл.;
- розчин для розведення сироваток (PPC) - 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.

3. АНАЛІТИЧНІ І ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфічність становить 100%.

Чутливість становить 100%.

4. 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.

5. 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.

6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ

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

7. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

7.1. Перед роботою витягти набір з холодильника, розкрити упаковку і витримати всі компоненти набору, в тому числі і запечатаний пакет з планшетом, при температурі від 18 до 25 ° C не менше 60 хв.

7.2. Контрольні зразки (K+, K+ слабкий. і K-), кон'югат, розчин ТМБ і стоп-реагент готові до використання і не вимагають додаткового розведення.

7.3. ПРАВИЛА РОБОТИ ПРИ ДРОБОВОМУ ВИКОРИСТАННІ НАБОРУ

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

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

7.4. ПІДГОТОВКА ПЛАНШЕТ

Розкрити пакет вище замка і встановити на рамку необхідне 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 ° C протягом усього терміну придатності набору.

7.5. ПРИГОТУВАННЯ ПРОМИВНОГО РОЗЧИНУ

Промивний розчин приготувати розведенням вихідного концентрату фосфатно-сольового буферного розчину з твін в 25 разів.

Для цього відповідно до числа використовуваних стрипів (див.таблицю витрати компонентів) 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.**

7.6. ПІДГОТОВКА КОН'ЮГАТУ

Залежно від кількості використовуваних стрипів (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).

7.7. ПІДГОТОВКА РОЗЧИНУ ТМБ

Залежно від кількості використовуваних стрипів (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).

Увага!Для роботи з розчином ТМБ необхідно використовувати тільки одноразові наконечники. Посуд, призначену для розчину ТМБ, не можна відмивати із застосуванням синтетичних миючих засобів, оскільки навіть їхні сліди ведуть до неконтрольованого розкладання ТМБ в ході реакції. Після роботи посуд обполоснути водою, промити 70% етиловим спиртом і ретельно відмити дистильованою водою.

8. ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Увага! При постановці ІФА на автоматичних аналізаторах у разі дробового використання набору не поміщати флакони, що входять до складу набору, в камеру аналізатора, а для кожної постановки необхідну кількість компонентів відбирати в окрему чисту ємність. Виняток становить стоп-реагент - взаємозамінний компонент для всіх наборів, не вимагає зберігання в холодильнику протягом усього терміну придатності.

Внесення контрольних та досліджуваних зразків проводити досить швидко, протягом 5-7 хв, тому що при тривалому часу внесення зразків в лунки планшета часи інкубації першого і останнього зразків значно відрізняються, що може призвести до неправильної оцінки результатів.

8.1.Внести контрольні зразки:

- 1 лунка - 100 мкл К +;
- 1 лунка - 100 мкл К + слабкий.;
- 2 лунки - по 100 мкл К-.

В інші лунки внести по 90 мкл РРС і по 10 мкл цілісних досліджуваних сироваток, ретельно перемішати, при цьому колір розчину змінюється з фіолетового на синій. Таким чином, досліджувана сироватка в лунці розбавляється в 10 разів.

8.2. Відрізати плівку для заклеювання планшета необхідного розміру. Стрипи закрити, щільно притиснувши плівку. Інкубуйте 30 хв в термостаті при температурі 37 ° С.

8.3.Після закінчення інкубації зняти липку плівку і помістити її в посудину з дезінфікуючим розчином. За допомогою промивного пристрою промити лунки планшета 5 разів розчином для промивання (п. 7.5.), Чергуючи аспірацію і негайне заповнення лунок кожного стрипу. 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.

8.4. Внести до всіх лунок по 100 мкл кон'югату (п.7.6.).

Для внесення кон'югату використовувати пластикову ванночку і одноразові наконечники, що входять до складу набору.

8.5.Планшет закрити липкою плівкою і інкубувати 30 хв в термостаті при температурі 37 ° С.

8.6. Після закінчення інкубації стрипи промити 5 разів, як описано в п. 8.3.

8.7. Внести до всіх лунок по 100 мкл розчину ТМБ і інкубувати у темряві протягом 25 хв при температурі 18-25 ° С.

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

8.8. Внести до всіх лунок по 100 мкл стоп-реагенту.

9. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти величину оптичної щільності розчинів у лунках на спектрофотометрі вертикального сканування у двохвильовому режимі: основний фільтр - 450 нм, референс-фільтр в діапазоні 620-655 нм.

Допускається вимір оптичної густини на одній довжині хвилі - 450 нм.

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

10. КОРОТКА СХЕМА ІФА

Використовувати тільки після ретельного ознайомлення з інструкцією!

Додати: по 100 мкл К +, К + слабкий., К-;
по 90 мкл РРС і по 10 мкл цілісних досліджуваних сироваток.

Інкубувати: 30 хв, 37 ° С.

Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.

Додати: по 100 мкл кон'югату.

Інкубувати: 30 хв, 37 ° С.

Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.

Додати: по 100 мкл розчину ТМБ.

Інкубувати: 25 хв, 18-25 ° С, в темряві.

Додати: по 100 мкл стоп-реагенту.

Виміряти: ВП при 450 нм / референсна довжина хвилі 620-655 нм.

11. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ РЕАКЦІЇ

11.1. Розрахувати середнє арифметичне значення оптичної густини у лунках з негативним контрольним зразком (ОГсер.К-).

11.2. На підставі отриманих даних обчислити критичне значення оптичної густини (ОГкрит.) за формулою:

$$\text{ОГкрит.} = \text{ОГсер. К} + 0,2$$

Результати аналізу враховувати при дотриманні наступних умов:

- Значення ОГсер.К-повинно бути не більше 0,2;

- Значення оптичної густини в лунці з слабопозитивним контрольним зразком має бути не менше ОГкрит.

- Значення оптичної густини в лунці з позитивним контрольним зразком повинно бути не менше 1,0.

11.3. Результат аналізу вважати позитивним, якщо $\text{ОГзр.} \geq \text{ОГкрит.}$

Результат аналізу вважати негативним, якщо $\text{ОГзр.} < \text{ОГкрит.}$,

де ОГзр. - Оптична густина в лунці з досліджуваним зразком.

11.4. Слабопозитивний контрольний зразок служить для контролю якості постановки ІФА. К + слабкий. можна використовувати для оцінки відтворюваності результатів вимірювань в лабораторії.

11.5. При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображають зміна концентрації імуноглобулінів класу G до НВе-антигену вірусу гепатиту В в крові, необхідно використовувати набори реагентів одного найменування (одного підприємства-виробника).

12. 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 заморозування!

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.