



REF

B-951



96

І Н С Т Р У К Ц І Я
по застосуванню набору реагентів
«ДСУ-ІФА-НВеАg»
Тест-система імуноферментна для виявлення е-антигену
вірусу гепатиту В (НВеАg)

СКЛАД НАБОРУ:

Імуносорбент - поліклональні антитіла кози до НВеАg (анти-НВе), сорбованих на стрипах полістиролового 96-луночного розбірного;

Кон'югат (концентрат x 11), рідкий - поліклональні анти-НВе, мічені пероксидазою хрому;

К+ (контрольний позитивний зразок), рідкий - рекомбінантний НВеАg в буферному розчині;

К- (контрольний негативний зразок), рідкий - сироватка крові людини, яка не містить НВеАg, НВsАg, антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована;

РРК - розчин для розведення кон'югату;

АНТИ-НВе-ПЛЮС (нейтралізує реагент), ліофілізований або рідкий - імуноглобуліни кози, що містять антитіла до НВеАg - для постановки підтверджуючого тесту;

АНТИ-НВе-МІНУС (контрольний реагент), ліофілізований або рідкий - імуноглобуліни кози, що не містять антитіла до НВеАg - для постановки підтверджуючого тесту;

ПР(концентрат x 25) - розчин для промивання;

СБ - субстратний буферний розчин;

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

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

Набір розрахований на проведення 96 (один розбірний планшет) визначень, включаючи контрольні, призначений для ручної постановки з можливістю дрібного (по одному стрипу) використання набору або для одночасної постановки 96 визначень на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу.

Опис реагентів набору:

Імуносорбент - розбірний 96-луночний полістироловий планшет з прозорими безбарвними лунками;

Кон'югат (концентрат x 11) - прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина;

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

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

РРК - прозора або злегка опалесцююча блакитного кольору рідина;

АНТИ-НВе-ПЛЮС, ліофілізований - суха пориста аморфна гігроскопічна, рожевого кольору маса;

АНТИ-НВе-ПЛЮС, рідкий - прозора або злегка опалесцююча рожевого кольору рідина, допустиме утворення осаду;

АНТИ-НВе-МІНУС, ліофілізований - суха пориста аморфна гігроскопічна, блакитного кольору маса;

АНТИ-НВе-МІНУС, рідкий - прозора або злегка опалесцююча блакитного кольору рідина, допустиме утворення осаду;

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

СБ - прозора безбарвна рідина;

ТМБ - прозора безбарвна рідина;

Стоп-реагент - прозора безбарвна рідина.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Тест-система призначена для виявлення е-антигену вірусу гепатиту В (HBeAg) в сироватці (плазмі) крові людини. Може бути використана для специфічної діагностики, визначення активності інфекційного процесу, прогнозування тяжкості і результату гепатиту В.

ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

Для виготовлення контрольних зразків набору використані термоінактивовані сироватки. При роботі з набором в лабораторії з досліджуваними зразками сироваток (плазми) крові людини користуватись, як з потенційно інфекційним матеріалом працювати в гумових рукавичках, в спецодязі, не піпетувати ротом. Тверді відходи (використані планшети, наконечники до піпетки, флакони з-під реагентів, лабораторний посуд і т.д.) знешкоджувати зануренням в 6% розчин перекису водню з 0,5% синтетичного миючого засобу (СМС) або в 3% розчин хлораміну Б, або іншого дозволеного до застосування дез. засобу. 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/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 в автоклаві протягом 1 год під тиском 1,5 кГс/см² (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 реагенти після закінчення терміну їх 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 торкання 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 і т.д.) в разі повторного використання необхідно відразу після роботи промити 70% розчином етилового спирту, а потім водою дистильованою.

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

1. Спектрофотометр вертикального сканування, що дозволяє вимірювати оптичну щільність розчину в лунках планшета при довжинах хвиль 450 нм і 620-680 нм.
2. Піпетки змінного об'єму (одно- і багатоканальні).
3. Наконечники одноразові 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.

Об'єми реагентів при проведенні аналізу на необхідній кількості стрипів наведені в таблицях № 1 і 2

Таблиця 1

Витрата реагентів набору на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу

Кількість використуваних стрипів	Робочий розчин для промивання		Робочий розчин кон'югату		СС	
	ПР (конц. х25) (мл)	Вода дистильована (мл)	кон'югат (конц. х 11) (мл)	РРК (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
12	48,0	1152,0	1,8	18,0	1,2	24,0

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

Кількість використовуваних стрипів	Робочий розчин для промивання		Робочий розчин кон'югату		СС	
	ПР (конц. x25) (мл)	Вода дистильована (мл)	кон'югат (конц. x 11) (мл)	РРК (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
1	4,0	96,0	0,15	1,5	0,1	2,0
2	8,0	192,0	0,30	3,0	0,2	4,0
3	12,0	288,0	0,45	4,5	0,3	6,0
4	16,0	384,0	0,60	6,0	0,4	8,0
5	20,0	480,0	0,75	7,5	0,5	10,0
6	24,0	576,0	0,90	9,0	0,6	12,0
7	28,0	672,0	1,05	10,5	0,7	14,0
8	32,0	768,0	1,20	12,0	0,8	16,0
9	36,0	864,0	1,35	13,5	0,9	18,0
10	40,0	960,0	1,50	15,0	1,0	20,0
11	44,0	1056,0	1,65	16,5	1,1	22,0
12	48,0	1152,0	1,80	18,0	1,2	24,0

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

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

К+ - контрольний позитивний зразок, готовий до застосування.

К- - контрольний негативний зразок, готовий до застосування.

РРК - розчин для розведення кон'югату, готовий до застосування. Перед використанням вміст флакона ретельно перемішати.

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

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

ТМБ - хромоген - 3,3',5,5'- тетраметилбензидін 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 табл. № 1 і 2), ретельно перемішати до повного розчинення.

Зберігання: допустимо зберігання СС не більше 10 г в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С в 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.

Розчин нейтралізуючого реагенту (АНТИ-НВе-ПЛЮС) – вміст флакона з ліофілізованим АНТИ-НВе-ПЛЮС розчинити в обсязі води дистильованої, зазначеному на етикетці флакона при ретельному перемішуванні, не допускаючи спінювання рідини. Інтенсивне перемішування не застосовувати! Термін придатності приготовленого розчину - не більше 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С. Більш тривале зберігання - протягом терміну придатності набору - допустимо в замороженому стані при температурі не вище мінус 10 °С в аліквотах (не допускати заморожування і відтавання розчину більше одного разу).

Розчин контрольного реагенту (АНТИ-НВе-МІНУС) – вміст флакона з ліофілізованим АНТИ-НВе-МІНУС розчинити в об'ємі води дистильованої, зазначеному на етикетці флакона при ретельному перемішуванні, не допускаючи спінювання рідини. Інтенсивне перемішування не застосовувати. Термін придатності приготовленого розчину - не більше 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С. Більш тривале зберігання - протягом терміну придатності - допустимо в замороженому стані при температурі не вище мінус 10 °С в аліквотах (не допускати заморожування і відтавання розчину більше одного разу).

При комплектації набору рідкими компонентами що нейтралізує і контрольний реагенти готові до застосування.

Зберігання: після відкриття флаконів, що залишилися невикористаними реагенти набору (ПР

(концентрат х 25), кон'югат (концентрат х 11), К-, К +, РРК, СБ, ТМБ, стоп-реагент, АНТИ-НВе-ПЛЮС (рідкий), АНТИ-НВе-МІНУС (рідкий)) зберігати у флаконах, закритих гвинтовими кришками, протягом терміну придатності набору при температурі від 2 до 8 °С.

3. Підготовка досліджуваних зразків.

Для виключення хибних результатів не можна піддавати досліджувані зразки термоінактивуванню, необхідно відбирати і зберігати їх в умовах, що запобігають бактеріальному зростанню. Кожен зразок сироватки слід відбирати новим наконечником! Відібрані зразки зберігати не більше 3 діб при температурі від 2 до 8 ° С. Більш тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 20 ° С (зразки можуть піддаватися заморожуванню та відтаюванню не більше 1 разу). Дослідження зразків з вираженим бактеріальним ростом, гемолізом і гіперліпідемією не допускається, так як 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 розкриття пакета імуносорбент стабільний протягом 1 міс. при температурі від 2 до 8°С.

4.2. Перед використанням імуносорбент промити 2 рази робочим ПР за допомогою вошера (або багатоканальної піпетки), обережно заливаючи його до країв лунок (від 380 до 400 мкл в лунку), не допускаючи при цьому переливання розчину для промивання через край лунок, витримуючи 40 сек і обережно видаляючи розчин для промивання в ємність для збору інфікованого матеріалу.

4.3. У 3 лунки імуносорбенту внести по 50 мкл К-, в 1 лунку - 50 мкл К+. В інші лунки внести по 50 мкл досліджуваних зразків. Далі в усі використовувані лунки імуносорбенту додати по 150 мкл кон'югату в робочому розведенні. При додаванні кон'югату слід уникати випадкового занесення зразка з одного стрипа в інший через наконечники. Планшет покрити кришкою або захисною плівкою і витримати в термостаті протягом 1 год при температурі $(37,0 \pm 0,5) ^\circ \text{C}$ в умовах вологості камери. *

4.4. Вміст лунок видалити в ємність для інфікованого матеріалу і планшет промити 4 рази робочим ПР, як зазначено в п. 4.2.

4.5. У всі лунки планшета внести по 200 мкл СС і витримати планшет протягом 30 хв в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 ° С.

4.6. Реакцію зупинити додаванням в лунки планшета по 50 мкл стоп-реагенту, вміст лунок ретельно перемішати обережним постукуванням по краях планшета і через 2-3 хв провести облік результатів.

* В якості вологості камери може бути використаний поліетиленовий пакет з вкладеною в нього ватою (марлею) або фільтрувальної папером, змоченою водою.

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 середнє значення ОП в лунках з К-- не більше 0,2, а в лунці з К+ - не менше 0,6.

Позитивним вважають зразок зі значенням ОП дорівнює або перевищує ОП критичне (ОП крит.).

Негативним вважають зразок зі значенням ОП менше ОП крит.

ОП крит. розраховують за формулою:

$$\text{ОП крит.} = \text{ОП К-ср.} + A,$$

де А – коефіцієнт, який визначається 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 № 005 ХХХ величина коефіцієнта $A=0,200$ ».

Остаточний позитивний результат на НВеАg слід встановити після проведення підтверджуючого тесту. Для цього в 3 лунки імуносорбенту внести по 50 мкл зразка, позитивного при первинному скринінгу. Перша лунка служить для повторного тестування зразка з метою виключення випадкових помилок постановки. У другу лунку з досліджуваним зразком додати 10 мкл контрольного реагенту (АНТИ-НВе-

МІНУС), в третю лунку внести 10 мкл нейтралізуючого реагенту (АНТИ-НВе-ПЛЮС). Далі ІФА провести, як описано в п. 4.2 - 4.6. Позитивний результат вважати підтвердженням, якщо ОП зразка в лунці з АНТИ-НВе-ПЛЮС на 50% (та більше) менше ОП зразка в лунці з АНТИ-НВе-МІНУС.

Зразки з ОП $\geq 1,0$ тестують в підтверджуючому тесті згідно даної інструкції. Зразок, що не піддається нейтралізації, слід розвести в 25 разів робочим розчином для промивання і повторити тестування. Якщо після розведення в 25 разів зберігаються високі значення ОП і зразок не піддається нейтралізації, то рекомендується розвести вихідний зразок в 50 разів і знову провести аналіз. Якщо додавання АНТИ-НВс-ПЛЮС до зразку, розчиненому в 50 і більше (100, 200 і т.д.) раз, викликає зниження ОП в 2 і більше рази, то зразок слід вважати позитивним, а при зниженні ОП менш, ніж в 2 рази - негативним.

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

1.1. Задають програму проведення ІФА і включають аналізатор.

1.2. Приготований робочий розчин для промивання заливають в призначену для нього ємність, інші робочі розчини і реагенти поміщають в спеціальні контейнери або ємності, контрольні зразки К + і К - у флаконах, зразки досліджуваних сироваток у флаконах або пробірках в обсязі не менше 300 мкл встановлюють до відповідних штативів аналізатора; розміщують в аналізатор необхідну кількість імуносорбенту.

1.3. Після закінчення аналізу прилад видає протокол за результатами дослідження, в якому дається характеристика кожного досліджуваного зразка і контрольних зразків К + і К -.

1.4. Реакцію враховують, якщо середнє значення ОП в лунках з К-- не більше 0,2, а в лунці з К + - не менше 0,6. Далі облік результатів проводити аналогічно п. 5.

Форма випуску

Імуносорбент	1 шт.
Кон'югат (концентрат x 11)	2,0 мл - 1 фл.
К+	1,0 мл - 1 фл.
К-	2,0 мл - 1 фл.
РРК	20,0 мл - 1 фл.
АНТИ- НВе – ПЛЮС – ліофілізований або АНТИ-НВе-ПЛЮС - рідкий	1 фл. 1,0 мл - 1 фл.
АНТИ- НВе – МІНУС– ліофілізований або АНТИ-НВе-МІНУС - рідкий	1 фл. 1,0 мл - 1 фл.
ПР (концентрат x 25)	50,0 мл – 1 фл.
СБ	25,0 мл - 1 фл.
ТМБ	1,5 мл - 1 фл.
Стоп-реагент	25,0 мл – 1 фл.

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

Додатково в комплект поставки можуть бути включені:

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

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ТРАНСПОРТУВАННЯ ТА ЗБЕРІГАННЯ.

Термін придатності набору - 12 міс.


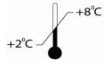











Після закінчення терміну придатності набір використанню не підлягає.

Транспортування наборів повинно проводитися при температурі від 2 до 8°C. Припустимо 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 відпуску - 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, м. Київ, вул. Багговутівська, б. 8/10, тел. 044 361 55 76 E-mail: ua@npods.ru.

	Для діагностики in vitro		Температурні межі зберігання
	Виробник		Термін придатності число/місяць/рік
	Каталожний номер		Дата виготовлення місяць/рік
	Кількість визначень		Використовувати інструкцію по застосуванню
	Номер партії (серії)	Code: X.X.XX	Ідентифікаційний код
 UA.TR.116	Знак відповідності		Не допускати впливу сонячного світла
	«Увага»		Берегти від вологи