

### ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення сумарних антитіл до core-антигену вірусу гепатиту В  
**«HBc-антитіла-БЕСТ»**

Набір реагентів «HBc-антитіла-БЕСТ» призначений для виявлення сумарних антитіл до core-антигену вірусу гепатиту В (HBcAg) в сироватці (плазмі) крові методом імуноферментного аналізу. Один набір розрахований на проведення: (комплект 1) - 96 аналізів, (комплект 2) - 192 аналізи, включаючи контрольні зразки.

#### Склад набору (з розрахунку на 1 планшет)

- планшет розбірний з іммобілізованим рекомбінантним core-антигеном вірусу гепатиту В - 1 шт.
- позитивний контрольний зразок, інактивований (К+), - 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (К-), - 1 фл.;
- кон'югат моноклональних антитіл до HBcAg, мічені пероксидазою хрому - 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, бланком для внесення проб.

#### Аналітичні і діагностичні характеристики

Специфічність виявлення антитіл до HBcAg – 100%.

Чутливість виявлення антитіл до HBcAg – 100%.

#### Підготовка зразків

На один аналіз потрібно 50 мкл сироватки крові людини.

#### Підготовка реагентів

Витримати реагенти не менше 60 хв. при 18-25 °С

#### Приготування розчину для промивання

Промивочний розчин приготувати розведенням концентрату ФСБ-Т в 25 разів (дивитись таблицю витрат компонентів). У випадку наявності кристалів в концентраті розчину для промивання прогрійте флакон при 37°С протягом 15-20 хвилин. Розведений розчин можна зберігати при температурі 2-8°С не більше 7 діб.

#### Таблиця витрат компонентів набору реагентів

Кіл-сть використуваних стрипів	кон'югат, мл	Розчин ТМБ, мл	Промиваючий розчин	
			ФСБ-Т, концентрат мл	Дистил. 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

## Приготування кон'югату та ТМБ

Кон'югат та розчин ТМБ готові до використання. В залежності від кількості стрипів відібрати як вказано в таблиці витрат компонентів.

### 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.

### 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.

### Проведення ІФА

#### Внесення зразків

Внести контрольні зразки:

- ▲ 1 лунка — 50 мкл К+
- ▲ 2 лунка — по 50 мкл К-

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

В інші лунки внести по 50 мкл цільних досліджуваних сироваток.

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

#### Внесення кон'югату

В лунки планшету внести по 100 мкл кон'югату.

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

#### Інкубація

Планшет заклеїти плівкою та інкубувати в термостаті протягом 60 хв при температурі 37 С.

#### Промивання

По закінченні інкубації зняти клейку плівку та помістити її до посудини з дезінфікуючим розчином. За допомогою промивного приладу промити лунки планшету 5 разів промиваючим розчином, чергуючи аспірацію та негайне заповнення лунок кожного стріпу. В кожен лунку вносити не менше 400 мкл рідини у процесі кожного циклу промивання. Час поміж заповненням та спорожненням лунок повинно бути не менше 30 сек. *Необхідно добиватися повного спорожнення лунок після кожного їх заповнення.* Після закінчення промивки залишки вологи з лунок ретельно видалити, постукуючи перевернутим планшетом по фільтрувальній бумазі.

#### Внесення ТМБ

Внести у всі лунки по 100 мкл розчину ТМБ.

*Для внесення розчину тетраметілбензидіну використовувати пластикову ванночку та одноразові наконечники, що входять до складу набору.*

#### Інкубація

Планшет витримати у захищеному від світла місці протягом 25 хв при температурі 18-25 С.

#### Внесення стоп-реагенту

Внести у всі лунки по 100 мкл стоп-реагенту з тією ж швидкістю та в тій же послідовності, як і розчин тетраметілбензидіна.

#### Проведення вимірів

Виміряти оптичну густину за допомогою спектрофотометру у двоохвильовому режимі: основний фільтр — 450 нм, референс-фільтр — в діапазоні 620-655 нм. Допускається вимірювання тільки з фільтром — 450 нм.

Час між зупинкою реакції та вимірюванням оптичної густини не повинно перевищувати 5 хв.

#### Умови правильності роботи набору

Результати аналізу досліджуваних зразків враховувати, якщо будуть виконані наступні умови:

- ▲ середнє значення оптичної густини в лунках з негативним контрольним зразком має бути не менше 1,2 од. оптичної густини;
- ▲ значення оптичної густини в лунці з позитивним контрольним зразком має бути не більше 0,2 од. оптичної густини.

## РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ

### Виявлення зразків, що містять та не містять сумарні антитіла до HbcAg

Обчислити критичні значення оптичної густини за формулою:

де ОГ<sub>сер. К-</sub> - середнє значення оптичної густини в лунках з негативним контрольним зразком.

Результат аналізу рахувати позитивним, якщо  $ОГ_{зр.} \leq ОГ_{крит.}$ , де ОГ<sub>зр.</sub> - оптична густина використовуваного зразка.

Результат аналізу рахувати негативним, якщо  $ОГ_{зр.} > ОГ_{крит.}$ .

При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображаючих зміни концентрації антитіл до НВсАg у крові, необхідно використовувати набори реагентів одного найменування (одного підприємства-виробника).

### УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ

Набори реагентів необхідно зберігати та транспортувати в упаковці підприємства-виробника при температурі 2-8 С протягом всього строку придатності. Допускається транспортування набору при температурі до 25 С не більше 10 діб.

Після закінчення строку придатності набір не використовувати.

**Не допускати заморожування!**

**Дробове використання** набору може бути реалізовано протягом всього строку придатності.

При постановці ІФА не можна використовувати компоненти набору різних серій чи змішувати їх при приготуванні розчинів, крім неспецифічних компонентів (ФСБ-Т, стоп-реагент), які взаємопов'язані в усіх наборах.

*Не можна використовувати реагенти з наборів інших фірм-виробників.*

Для отримання надійних результатів необхідно суворо дотриматись цієї інструкції з використання набору.

*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.

### КОРОТКА СХЕМА ПРОВЕДЕННЯ ІФА для набору «НВс-антитіла-БЕСТ»

<b><u>Використовувати тільки після ретельного ознайомлення з інструкцією !</u></b>	
<b>Внести</b>	по 50 мкл К+, К- по 50 мкл цільних досліджуваних сировоток
<b>Внести</b>	по 100 мкл кон'югату
<b>Інкубація</b>	60 хв. при 37 °С
<b>Промити</b>	промиваючим розчином, 450 мкл, 5 разів
<b>Внести</b>	по 100 мкл розчину ТМБ
<b>Інкубація</b>	25 хв. при 18-25 °С, в темному місці
<b>Внести</b>	по 100 мкл стоп-реагенту
<b>Виміряти</b>	ОП при 450 нм/референсна довжина хвилі 620-655 нм.