

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

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

Набір реагентів «НВс-антитіла-БЕСТ» призначений для виявлення сумарних антитіл до core-антигену вірусу гепатиту В (НВсAg) 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 НВсAg, мічені пероксидазою хрому - 1 фл.;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину з твіном (ФСБ-Т × 25) - 1 фл.;
- розчин тетраметілбензидіна (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 НВсAg – 100%.

Чутливість виявлення антитіл до НВсAg – 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 напіваавтоматичні 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 тетраметілбензідіну 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 тетраметілбензідіна.

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. опт. густини;
- ▲ значення оптичної густини в лунці з позитивним контрольним зразком має бути не більше 0,2 од. опт. густини.

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ

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

Обчислити критичні значення оптичної густини за формулою:

де ОГ_{сер. К-} - середнє значення оптичної густини в лунках з негативним контрольним зразком.

Результат аналізу рахувати позитивним, якщо $ОГ_{зр.} \leq ОГ_{крит.}$, де ОГ_{зр.} - 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»

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