

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення імуноглобулінів класу G
до core-антигену вірусу гепатиту B
«HBc-IgG-БЕСТ»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «HBc-IgG-БЕСТ» призначений для виявлення імуноглобулінів класу G до core-антигену вірусу гепатиту B в сироватці (плазмі) крові людини методом імуноферментного аналізу. Набір може бути використаний в клінічних та епідеміологічних дослідженнях, а також службою крові. Набір розрахований на проведення 96 аналізів, включаючи контрольні зразки.

2. СКЛАД НАБОРУ

- планшет розбірний з іммобілізованим рекомбінантним HBc-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.
- розчин для розведення сироваток (PPC) - 1 фл.;
- кон'югат моноклональних антитіл до IgG людини, мічених пероксидазою хрому - 1 фл.;
- фосфатно-сольовий буферний розчин с твін, концентрат (ФСБ-Т × 25) - 2 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 ° 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.

7. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДО АНАЛІЗУ

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. Негативний, позитивний і слабопозитивний контрольні зразки, кон'югат, розчин ТМБ і стоп-реагент готові до використання і не вимагають додаткового розведення.

7.2. ПРАВИЛА РОБОТИ ПРИ ДРОБОВОМУ ВИКОРИСТАННІ НАБОРУ

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

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

7.3. ПІДГОТОВКА ПЛАНШЕТ

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.

7.4. ПРИГОТУВАННЯ РОЗЧИНУ ДЛЯ ПРОМИВАННЯ

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 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.

7.5. ПІДГОТОВКА КОН'ЮГАТУ

Відповідно до числом 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).

Зберігання: до 3 годин при 18-25 ° С.

7.6. ПІДГОТОВКА РОЗЧИНУ ТМБ

Відповідно до числом 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).

8. ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ (ІФА)

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.

8.2. Відрізати плівку необхідного розміру. Лунки планшета закрити, щільно притиснувши плівку. Інкубуйте 30 хв при 37 ° С.

8.3. 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. 7.4.), 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 спороженням лунок повинно бути не менше 30 сек. Необхідно добиватися повного спороження 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. Відрізати плівку необхідного розміру. Лунки планшета закрити плівкою. Інкубуйте 30 хв при 37 ° С.

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

8.5. Планшет закрити плівкою і інкубувати 30 хв при 37 ° С.

8.6. Після закінчення інкубації планшет промити, як зазначено в п.8.3.

8.7. Внести до всіх лунок планшета по 100 мкл розчину ТМБ (п.7.6.). 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.

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

Уникайте контакту з розчином ТМБ і стоп-реагентом. У разі потрапляння розчину ТМБ або стоп-реагенту на шкіру та слизові оболонки необхідно негайно змити їх великою кількістю проточної води.

9. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати ІФА реєструвати за допомогою спектрофотометра, вимірюючи оптичну густина у двохвильовому режимі: основний фільтр - 450 нм, референс-фільтр - в діапазоні 620-655 нм. Допускається вимір оптичної щільності 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 уважного ознайомлення з інструкцією!

Внести: 100 по 100 мкл К +, К + слабкий., К-;
по 90 мкл РРС і по 10 мкл цілісних аналізованих зразків.

Інкубувати: 30 хв, 37 ° С.

Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.

Внести: по 100 мкл кон'югату.

Інкубувати: 30 хв, 37 ° С.

Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.

Внести: по 100 мкл розчину ТМБ.

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

Внести: по 100 мкл стоп-реагенту.

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

11. РОЗРАХУНКИ І ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

11.1. РОЗРАХУНКИ

11.1.1. Розрахувати середнє арифметичне значення оптичної щільності у лунках з негативним контрольним зразком (ОГ_{ср.К}).

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

$ОГ_{крит.} = ОГ_{ср.К} + 0,3$.

11.2. ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

11.2.1. Середнє значення оптичної густини у лунках з негативним контрольним зразком не повинно перевищувати 0,20 од. опт. густини.

11.2.2. Значення оптичної густини в лунці з позитивним контрольним зразком повинно бути не менше 1,00 од. опт. густини.

11.2.3. Значення оптичної густини в лунці з слабоположителньне контрольним зразком повинно бути не менше ОГ_{крит.} ..

11.2.4. Результат аналізу вважати позитивним, якщо $ОГ_{зр.} \geq ОГ_{крит.}$, Де $ОГ_{зр.}$ - Значення оптичної щільності в лунці з аналізованим зразком. Результат аналізу вважати негативним, якщо $ОГ_{зр.} < ОГ_{крит.}$..

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

11.2.6. При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображають зміна концентрації імуноглобулінів класу G до соге-антигену вірусу гепатиту В 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 для ручної постановки

Кількість викор.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