

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення імуноглобулінів
класу М до вірусу гепатиту С
«ВГС-IgM-БЕСТ»

«ВГС-IgM-БЕСТ» являє собою набір реагентів, основою якого є рекомбінантні антигени вірусу гепатиту С (ВГС), відповідні ділянок білків, кодованих структурної (core) і неструктурної (NS3, NS4, NS5) області генома ВГС, іммобілізовані на поверхні лунок розбірного полістироловий планшет.

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів призначений для виявлення IgM до антигенів ВГС у сироватці (плазмі) крові і може бути використаний для діагностики первинної та рецидивуючої інфекції гепатиту С, а також для визначення ефективності лікування. Один набір розрахований на 96 аналізів, включаючи контролю.

2. СКЛАД НАБОРУ

- планшет розбірний з іммобілізованими реком бінантними антигенами ВГС - 1 шт.
- позитивний контрольний зразок, інактивованій (К +, прозора рідина червоного кольору) - 1 фл;
- негативний контрольний зразок, інактивованій (К-, прозора рідина жовтого кольору) - 1 фл.
- кон'югат (антитіла до IgM людини, мічені пероксидазою хрому) - 1 фл. або 2 фл.;
- розчин для розведення сироваток (РС, рідина жовто-червоного кольору) - 1 фл., 16 мл;
- розчин для попереднього розведення (РПР) - 1 фл., 3 мл;
- розчин для розведення кон'югату (РК) - 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину з твін (ФСБ-Т × 25) - 1 фл., 28 мл.;
- субстратний буферний розчин (СБР) - 1 фл., 13 мл.;
- тетраметілбензідін (ТМБ), концентрат - 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент - 1 фл., 12 мл;

3. 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.

3.1. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

3.1.1. Розчин для промивання

Збовтати вміст флакона з ФСБ-Т × 25. При випаданні в концентраті осаду солей прогріти його до повного розчинення осаду.

Відповідно до числом використовуваних стрипів відібрати необхідну кількість ФСБ Т × 25 (див. таблицю 1) і розвести його дистильованою водою до зазначеного в таблиці об'єму або вміст 1 флакона - **до 700 мл.**

Зберігання: при (28) °С до 72 ч.

3.1.2. Розчин кон'югату

Увага! Для роботи з кон'югатом рекомендуємо використовувати одноразові наконечники для піпеток.

Приготувати концентрований розчин кон'югату шляхом розчинення містимого флакона з кон'югатом в **1 мл** РПР.

Зберігання: концентрований розчин кон'югату - при (28) °С до 1 місяця.

Увага! Розчин кон'югату в робочому розведенні готувати в пластиковій ванночці, що входить до складу набору, безпосередньо перед використанням!

Ретельно збовтати вміст флакона з розчином для розведення кон'югату (РК).

У пластикову ванночку відібрати необхідну кількість концентрованого розчину кон'югату (див. таблицю), додати відповідну кількість РК, ретельно перемішати піпетування.

Кон'югат в робочому розведенні зберігання не підлягає.

3.1.3. Розчин ТМБ в робочому розведенні

Увага! Розчин ТМБ готувати в пластиковій ванночці, що входить до складу набору, безпосередньо перед використанням!

Рекомендуємо виділити наконечники для піпеток, які використовувати тільки для роботи з ТМБ.

У пластикову ванночку відібрати необхідну кількість ТМБ (див.таблицю), додати до нього відповідну кількість СБР, ретельно перемішати.

Розчин стабільний до 3-х годин у захищеному від світла місці при (18-25) ° С.

Таблиця витрати реагентів

таблиця 1

Кількість використаних стрипів												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промиваючий розчин												
ФСБ-Т□25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистильована вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
Розчин кон'югату в робочому розведенні												
Кон'югат (Концентрат), мкл	α^*	2 α	3 α	4 α	5 α	6 α	7 α	8 α	9 α	10 α	11 α	12 α
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Розчин ТМБ в робочому розведенні												
ТМБ (концентрат) мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

$\alpha=40$ мкл.

3.2. ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

3.2.1. Підготувати необхідну кількість стрипів до роботи. Решта - відразу упакувати щоб уникнути згубного впливу вологи. Для цього стрипи помістити в цефленовий пакет з вологопоглиначем, ретельно закрити пакет пластиковою застібкою. Упаковані таким чином стрипи зберігати при (2-8) ° С до 1 місяця.

Приготувати розчин для промивання (п. 3.1.1) і концентрований розчин кон'югату (п. 3.1.2). Всі розчини повинні бути кімнатної температури (18-25) ° С.

Перед постановкою ІФА лунки стрипів промити 1 раз розчином для промивання.

Увага! Кожну лунку при промиванні необхідно заповнювати повністю (400 мкл розчину для промивання). Необхідно добиватися повного спорожнення лунок після кожного їх заповнення. Час між заповненням і спорожненням лунок повинно бути не менше 30 сек.

Після закінчення промивання необхідно ретельно видалити вологу з лунок, постукуючи перевернутими стрипами по складеній в декілька шарів фільтрувального паперу. Не допускати висихання лунок стрипів між окремими операціями при постановці реакції.

3.2.2. У всі лунки стрипів внести по **80 мкл РС**, в будь-які 2 лунки внести по 20 мкл розчину К-, в 2 інші - по 20 мкл К+, одну лунку залишити з РС - контроль кон'югату.

У всі інші лунки внести **по 20 мкл** досліджуваних сироваток, отримуючи, таким чином, кінцеве розведення сироваток 1:5. *Внесення сироваток має супроводжуватися ретельним перемішуванням (піпетування не менше 4 разів).* Лунки заклеїти плівкою і інкубувати 30 хв при 37 ° С.

За 5 хвилин до закінчення інкубації приготувати розчин кон'югату в робочому розведенні (п. 3.1.2).

3.2.3. Після закінчення інкубації вміст лунок зібрати в посудину з дезінфікуючим розчином, промити лунки стрипів 5 разів розчином для промивання і видалити вологу, як описано вище (п. 3.2.1).

3.2.4. У всі лунки внести по **100 мкл розчину кон'югату в робочому розведенні**.

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

Лунки заклеїти плівкою і інкубувати 30 хв при 37 ° С.

3.2.5. Після закінчення інкубації вміст лунок зібрати в посудину з дезінфікуючим розчином, промити лунки стрипів 5 разів розчином для промивання і видалити вологу, як описано вище.

3.2.6. Приготувати розчин ТМБ в робочому розведенні (п. 3.1.3).

У всі лунки внести по 100 мкл розчину ТМБ в робочому розведенні.

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

Стрипи помістити на 30 хв в захищене від світла місце при (18-25) ° С.

3.2.7. Реакцію зупинити додаванням до всіх лунок по 100 мкл стоп-реагенту і негайно виміряти оптичну густина (ОГ).

Увага! Слід уникати попадання стоп-реагенту на одяг і відкриті ділянки тіла. При попаданні - промити великою кількістю води.

4. РЕЄСТРАЦІЯ ТА ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати ІФА реєструвати за допомогою спектрофотометра, вимірюючи оптичну щільність у двоххвильовому режимі: основний фільтр - 450 нм, референс-фільтр - в діапазоні 620-650 нм. Допустима реєстрація результатів тільки з фільтром 450 нм. Виведення спектрофотометра на нульовий рівень («бланк») здійснюють по повітрю.

Результати досліджень враховувати тільки при дотриманні наступних умов:

- Значення ОГ в лунці з контролем кон'ю гата і середнє значення ОГ в лунках з негативним контрольним зразком (ОГсер К-) не більше 0,2;
- Середнє значення ОГ в лунках з позитивним контрольним зразком (ОГсер К+) перевищує (ОГсер К-) більш ніж на 0,4.

За результатами ІФА розрахувати значення ОГ_{крит} за формулою:

$$\text{ОГ}_{\text{крит}} = \text{ОГсер К} + 0,3.$$

Для інтерпретації результатів використовувати коефіцієнт позитивності (КП):

$$\text{КП} = \text{ОГ}_{\text{зр.}} / \text{ОГ}_{\text{крит}}.$$

Якщо $\text{КП} < 1$, результат оцінювати як негативний.

Якщо $\text{КП} \geq 1$, досліджувану сироватку розцінювати як позитивно реагує.

При виявленні позитивно реагує сироватки цей зразок досліджувати повторно для відтворення позитивного результату або виключення технічної помилки.

Якщо позитивний результат відтворюється, рекомендується спостереження в динаміці (через 2-3 міс.) з паралельним дослідженням на антитіла класу IgG.

5. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ

Набір реагентів «ВГС-IgM-БЕСТ» слід зберігати і транспортувати в упаковці підприємства-виробника при температурі (2-8) ° С протягом усього терміну придатності (14 місяців). Допускається транспортування набору при температурі до 25 ° С не більше 10 діб.

Заморожування набору не допускається.

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.