

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення імуноглобулінів класу G до вірусу ТТ (TTV - Torques tenuis virus)
«Геп TTV-IgG-БЕСТ»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «Геп TTV-IgG-БЕСТ» призначений для імуноферментного виявлення імуноглобулінів класу G до вірусу ТТ (TTV-IgG) у сироватці (плазмі) крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу.

Набір може бути використаний в клінічних та епідеміологічних дослідженнях для ретроспективної діагностики TTV-інфекції. Поточну інфекцію підтверджують виявленням в крові вірусної ДНК.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРУ

2.1. Принцип методу

Метод визначення заснований на двостадійному твердофазному імуноферментному аналізі із застосуванням рекомбінантного поверхневого антигену вірусу ТТ і моноклональних антитіл проти IgG людини. Набір розрахований на проведення 96 аналізів, включаючи контрольні зразки.

2.2. СКЛАД НАБОРУ

- планшет розбірний з іммобілізованим антигеном вірусу ТТ - 1 шт.
- позитивний контрольний зразок, інактивований (К+) - 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (К-) - 1 фл.;
- кон'югат моноклональних антитіла проти IgG людини, мічених пероксидазою хрому - 1 фл.;
- розчин для розведення сироваток (PPC) - 1 фл.;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину з твін (ФСБ-Т × 25) - 1 фл.;
- розчин тетраметілбензідіна (розчин ТМБ) - 1 фл.;
- стоп-реагент - 1 фл.;

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.

4. 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.

5. АНАЛІЗУЄМІ ЗРАЗКИ

На один аналіз потрібно 10 мкл сироватки (плазми) крові людини.

Вимоги до зразків

Для проведення аналізу не слід використовувати гемолізованих, каламутну сироватку крові.

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.

Слід уникати багаторазового заморожування / відтавання, так як це може призвести до отримання неправильних результатів. Після розморожування зразки слід ретельно перемішати.

Зразки сироваток крові, що містять зважені частки, необхідно очистити центрифугуванням при 5000-10000 об / хв протягом 5 хв при температурі від 18 до 25 ° С.

6. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Перед проведенням аналізу досліджувани 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.

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

Контрольні зразки, кон'югат, розчин ТМБ і стоп-реагент готові до використання і не вимагають додаткового розведення.

6.1. Підготовка планшета

Розкрити пакет вище замку і встановити на рамку необхідне 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.

6.2. Приготування розчину для промивання

Промивний розчин приготувати розведенням вихідного концентрату ФСБ-Т в 25 разів. Для цього відповідно до числа використовуваних стрипів (див. таблицю витрати компонентів) 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.

6.3. 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!).

6.4. 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!).

Увага! Для роботи з розчином ТМБ необхідно використовувати тільки одноразові наконечники. Посуд, призначену для розчину ТМБ, не можна відмивати із застосуванням синтетичних миючих засобів, оскільки навіть їхні сліди ведуть до неконтрольованого розкладання ТМБ в ході реакції. Після роботи посуд обполоснути водою, промити 70% етиловим спиртом і ретельно відмити дистильованою водою.

7. ПРОВЕДЕННЯ ІФА (коротка схема проведення ІФА наведена в додатку 1 в кінці цієї інструкції)

7.1. Внесення зразків

Увага! Внесення контрольних та досліджуваних зразків проводити досить швидко, протягом 5-10 хв, тому що при більш тривалому внесенні зразків в лунки планшета час інкубації першого і останнього зразків значно відрізняється, що може призвести до неправильної оцінки результатів.

Внести контрольні зразки:

1 лунка - 100 мкл К +;

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.

7.2. Інкубація Планшет заклеїти плівкою і інкубувати в термостаті протягом 30 хв при темп. 37 ° С.

7.3. Промивання

Після закінчення інкубації зняти липку плівку і помістити її в посудину з дезінфікуючим розчином. За допомогою промивного пристрою промити лунки планшета 5 разів розчином для промивання, 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 спорожненням лунок повинно бути не менше 30 сек.

Необхідно добиватися повного спорожнення лунок після кожного їх заповнення.

7.4. Внесення кон'югату

Внести до всіх лунок по 100 мкл кон'югату.

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

7.5. Інкубація Планшет заклеїти плівкою і інкубувати в термостаті протягом 30 хв при темп. 37 ° С.

7.6. Промивання Після закінчення інкубації промити планшет 5 разів як описано вище.

7.7. Внесення ТМБ Внести до всіх лунок по 100 мкл розчину тетраметілбензідіна. Для внесення розчину ТМБ використовувати пластикову ванночку і одноразові наконечники, що входять до складу набору.

7.8. Інкубація Планшет витримати в захищеному від світла місці протягом 25 хв при темп. 18-25 ° С.

7.9.Внесення стоп-реагенту Внести до всіх лунок по 100 мкл стоп-реагенту.

7.10. Проведення вимірювань

Через 2-3 хв після зупинки реакції виміряти оптичну щільність за допомогою спектрофотометра в двохвильовому режимі: основний фільтр - 450 нм, референс-фільтр - в діапазоні 620-655 нм. Допускається вимір тільки з фільтром 450 нм.

8. УМОВИ ПРАВИЛЬНОСТІ РОБОТИ НАБОРУ

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

- середнє значення оптичної щільності у лунках з негативним контрольним зразком не повинно перевищувати 0,2;
- значення оптичної щільності в лунці з позитивним контрольним зразком повинно бути не менше 0,9.

9. РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ

Виявлення зразків, що містять і не містять IgG до вірусу гепатиту ТТ

Обчислити критичне значення оптичної щільності за формулою: **ОЩкріт. = ОЩср.К-+ 0,3**

де ОЩср.К-- середнє значення оптичної щільності у лунках з негативним контрольним зразком.

Досліджуваний зразок містить ТТV-IgG (результат аналізу позитивний), якщо ОЩобр. \geq ОЩкріт., Де

ОЩобр. - Оптична щільність досліджуваного зразка.

Досліджуваний зразок не містить ТТV-IgG (Результат аналізу негативний), якщо ОЩобр.<ОЩкріт. .

При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображають зміну концентрації ТТV-IgG в крові, необхідно використовувати набори реагентів одного найменування (одного підприємства-виробника).

10.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.

Додаток 1

Коротка схема проведення ІФА для набору реагентів «Геп ТТV-IgG-БЕСТ»

Використовувати тільки після уважного

ознайомлення з інструкцією!

Внести	по 100 мкл К + і К-;
	по 90 мкл РРС і по 10 мкл цілісних досліджуваних сироваток.
Інкубуйте	30 хв, 37 ° С.
Промити	промиваючим розчином, 400 мкл, 5 разів.
Внести	по 100 мкл кон'югату.
Інкубуйте	30 хв, 37 ° С.
Промити	промиваючим розчином, 400 мкл, 5 разів..
Внести	по 100 мкл розчину тетраметілбензідіна.
Інкубуйте	25 хв, 18-25 ° С, в темряві.
Внести	по 100 мкл стоп-реагенту.
Виміряти	ОЩ при 450 нм / референсна довжина хвилі 620-655 нм.