

безпосередньо в камеру аналізатора, а необхідну кількість компонентів для кожної постановки відбирати в окремому чисту ємкість.

ПІДГОТОВКА ПЛАНШЕТ

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 набору.

Приготування розчину для промивання

Промивний розчин приготувати розведенням 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.

Таблиця витрати компонентів набору реагентів

К-ть використуваних стрипів	Суміш кон'югату і антигена ВГА		Розтвор ТМБ, мл	Промивальний розчин	
	антигена ВГА (мл)	кон'югат(мл)		ФСБТ, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	1,0	0,1	1,0	2,0	До 50
2	2,0	0,2	2,0	4,0	До 100
3	3,0	0,3	3,0	6,0	До 150
4	4,0	0,4	4,0	8,0	До 200
5	5,0	0,5	5,0	10,0	До 250
6	6,0	0,6	6,0	12,0	До 300
7	7,0	0,7	7,0	14,0	До 350
8	8,0	0,8	8,0	16,0	До 400
9	9,0	0,9	9,0	18,0	До 450
10	10,0	1,0	10,0	20,0	До 500
11	11,0	1,1	11,0	22,0	До 550
12	12,0	1,2	12,0	24,0	До 600

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.

ПРИГОТУВАННЯ СУМІШІ АНТИГЕНУ ВГА та КОН'ЮГАТУ

Відповідно до числа стрипів (див. таблицю витрати реагентів) в окремий чистий флакон або в пластикову ванночку для реагенту внести необхідну кількість антигену ВГА, додати відповідну кількість кон'югату, ретельно перемішати. Зберігання: до 3:00 при 18-25 ° С.

ПІДГОТОВКА РОБОЧОГО РОЗЧИНУ ТЕТРАМЕТІЛБЕНЗІДІНА

Відповідно до числа використовуваних стрипів (див. таблицю витрати компонентів) відібрати в чистий флакон або в пластикову ванночку для реагенту необхідну кількість розчину ТМБ.

Залишки використаного розчину ТМБ 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 ополоснути водою, промити 70% етиловим спиртом і ретельно відмити дистильованою водою.

ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ (ІФА)

Внести контрольні зразки:

- 1 лунка - 100 мкл К +;
- 2 лунки - по 100 мкл К-.

Наприклад, в лунки А-1 і В-1 внести по 100 мкл К-, в лунку С-1 - 100 мкл К +.

В інші лунки внести по 90 мкл РРС і по 10 мкл досліджуваних зразків, ретельно перемішати при цьому колір розчину змінюється з фіолетового на синій.

Планшет закрити плівкою і інкубувати 60 хв при 37 ° С в термостаті або 30 хв при 37 ° С в термошейкер з інтенсивністю перемішування 700 об. / Хв.

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 домагатися повного спорожнення лунок після кожного їх заповнення. Після закінчення промивання залишки вологи з лунок ретельно видалити, постукуючи перевернутим планшетом по фільтрувальному папері.

Внести в усі лунки по 100 мкл суміші антигену ВГА і кон'югату

Планшет закрити плівкою і інкубувати 90 хв при 37 ° С в термостаті або 45 хв при 37 ° С на термошейкер з інтенсивністю перемішування 700 об. / хв.

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

Після закінчення інкубації промити лунки 5 разів розчином для промивання, Дотримуючись етапи промивки п. 9.2.

Внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. І інкубувати в темряві протягом 25 хв при 18-25 ° С.

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

Зупинити 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.

РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати ІФА реєструвати за допомогою спектрофотометра, вимірюючи оптичну щільність 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 повинно перевищувати 5 хв.

КОРОТКА СХЕМА ІФА

Використовувати тільки після ретельного ознайомлення з інструкцією!

Термостат

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

Інкубуйте: 60 хв, 37 ° С.

Промити: розчином для промивання, 400 мкл, 5 разів.

Внести: по 100 мкл суміші антигену ВГА і кон'югату.

Інкубуйте: 90 хв, 37 ° С.

Промити: розчином для промивання, 400 мкл, 5 разів.

Внести: по 100 мкл розчину ТМБ.

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

Внести: по 100 мкл стоп-реагенту.

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

11.2. Термошейкер

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

Інкубуйте: 30 хв, 37 ° С, 700 об / хв.

Промити: розчином для промивання, 400 мкл, 5 разів.

Внести: по 100 мкл суміші антигену ВГА і кон'югату.

Інкубуйте: 45 хв, 37 ° С, 700 об / хв.

Промити: розчином для промивання, 400 мкл, 5 разів.

Внести: по 100 мкл розчину ТМБ.

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

Внести: по 100 мкл стоп-реагенту.

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

РОЗРАХУНКИ І ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахувати середнє значення оптичної густини в лунках з негативним контрольним зразком (ОГ ср. К-).

Середнє значення оптичної густини в лунках з негативним контрольним зразком повинно бути не більше 0,2.

Значення оптичної густини в лунці з позитивним контрольним зразком повинно бути не менше 0,8.

Тільки при дотриманні умов в інструкції можна враховувати результати, отримані для досліджуваних зразків.
Обчислити критичне значення оптичної густини (ОГкрит) за формулою:

$$\text{ОГкрит} = \text{ОГсрК} + 0,2,20$$

Результат аналізу вважають позитивним, якщо $\text{ОГзр} \geq \text{ОГкрит}$, Де ОГзр. - Оптична густина досліджуваного зразка.

Результат аналізу вважають негативним, якщо $\text{ОГзр} < \text{ОГкрит}$..

13.ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Для інтерпретації результатів дослідження рекомендуємо використовувати коефіцієнт позитивності (КП):

$$\text{КП} = \frac{\text{ОГ зр.}}{\text{ОГ крит.}}$$

Якщо $\text{КП} < 1$, результат аналізу вважають негативним.

Якщо $\text{КП} \geq 1$, результат аналізу вважають позитивним.

Позитивні сироватки, що потрапили в зону $1 \leq \text{КП} \leq 4$, мають низьку концентрацію IgM до ВГА. Такий зміст IgM до ВГА може відповідати початку інфекційного процесу або кінця захворювання - відновлювального періоду гепатиту А, коли в крові у обстежуваного крім IgM є у високій концентрації IgG до ВГА.

У тому випадку, коли в досліджуваній сироватці зміст IgM до ВГА визначається в низькій концентрації, а IgG до ВГА відсутні, слід провести аналіз парних сироваток в динаміці для оцінки зміни концентрації IgM в 1-й і 2-й сироватках хворого, узятих з інтервалом 7-14 днів. Парні сироватки повинні тестуватися в двох повторях під час однієї постановки аналізу.

Таблиця інтерпретації результатів серологічних тестів

КП IgM до ВГА	Інші маркери ВГА-інфекції		Можливі варіанти визначення стадії ВГА-інфекції
	У сироватці	У фекаліях	
$1 \leq \text{КП} \leq 4$	IgG ВГА-	Ag ВГА +	Початок клінічного періоду гепатиту А (початок стадії розпалу хвороби)
$1 \leq \text{КП} \leq 4$	IgG ВГА-	Ag ВГА-	Необхідно провести повторне дослідження. Збільшення концентрації (КП) в динаміці відповідає стадії початку клінічного періоду гепатиту А
$\text{КП} \geq 4$	IgG ВГА- або IgG ВГА +	Ag ВГА + або Ag ВГА-	Стадія розпалу хвороби (клінічний період гепатиту А)
$1 \leq \text{КП} \leq 4$	IgG ВГА +	Ag ВГА-	Відновлювальний період гепатиту А (стадія одужання)

Збільшення КП для 2-го зразка, взятого через 7-14 днів, в порівнянні з КП 1-го зразка свідчить про зростання концентрації IgM в сироватці крові і вказує на початок інфекції ВГА.

Позитивні зразки з $\text{КП} \geq 4$ мають високий вміст IgM до ВГА, зазвичай відповідне клінічного періоду гепатиту А (стадії розпалу хвороби).

При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображають зміну концентрації імуноглобулінів класів М до вірусу гепатиту А в крові, необхідно використовувати набори реагентів одного найменування (одного підприємства-виробника).

ЗБЕРІГАННЯ І ЗАСТОСУВАННЯ

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.