

## ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів  
для імуноферментного виявлення імуноглобулінів класу М  
до core-антигену вірусу гепатиту В  
«НВс-IgM-БЕСТ»

### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

**1.1.** Набір реагентів «НВс-IgM-БЕСТ» призначений для виявлення імуноглобулінів класу М до core-антигену вірусу гепатиту В (IgM до НВсAg) у сироватці (плазмі) крові методом імуноферментного аналізу.

**1.2.** Набір розрахований на проведення 96 аналізів, включаючи контролю. Можливі 12 незалежних постановок ІФА по 8 аналізів кожна, включаючи контролю.

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ТА СКЛАД НАБОРУ

#### 2.1. СКЛАД НАБОРУ

- планшет з іммобілізованими моноклональними антитілами до імуноглобулінів класу М людини - 1 шт.
  - позитивний контрольний зразок, інактивований (К+) - 1 фл.;
  - негативний контрольний зразок, інактивований (К-) - 1 фл.;
  - розчин для розведення сироваток (PPC) - 1 фл.;
  - кон'югат, рекомбінантний НВсAg, мічений пероксидазою хрому - 1 фл.;
  - концентрат фосфатно-сольового буферного розчину с Твін (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.

#### 2.2. АНАЛІТИЧНІ І ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфічність становить 100%.

Чутливість набору - виявлення специфічних IgM до НВсAg в титрі не менше 1:3200.

### 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. 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.

### 6. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

**6.1.** 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 хвилин.

**6.2.** Негативний контрольний зразок, позитивний контрольний зразок, кон'югат, розчин ТМБ і стоп-реагент готові до використання і не вимагають додаткового розведення.

#### 6.3. ПРАВИЛА РОБОТИ ПРИ ДОБОВОМУ ВИКОРИСТАННІ НАБОРУ

**6.3.1.** Розчини з флаконів відбирати лише одноразовими індивідуальними наконечниками для піпеток.

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

**6.3.3.** При постановці ІФА на автоматичних аналізаторах флакони, що входять до складу набору, не поміщати безпосередньо в камеру аналізатора, а необхідну кількість компонентів для кожної постановки відбирати в окрему чисту ємність.

#### 6.4. ПІДГОТОВКА ПЛАНШЕТ

Розкрити пакет вище замка 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.

#### 6.5. 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: до 5 діб при 2-8 ° С.

#### 6.6. ПІДГОТОВКА КОН'ЮГАТУ

Залежно від кількості 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).

#### 6.7. ПІДГОТОВКА РОЗЧИНУ ТМБ

Залежно від кількості 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

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 ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

#### 7.1. 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 внести 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. Таким чином, досліджувана сироватка в лунці розбавляється в 10 разів.

Час внесення зразків не повинно перевищувати 10 хв при використанні всіх лунок планшета.

Відрізати плівку необхідного розміру. Стрип закрити, щільно притиснувши плівку. Інкубувати в термостаті при температурі 37 ° С протягом 60 хв або в термошейкер орбітального типу 30 хв при 37 ° С і 500 об / хв.

7.2. 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 (п. 6.5.), 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. Після закінчення промивання залишки вологи з лунок ретельно видалити, постукаючи перевернутим планшетом по фільтрувальному папері.

7.3. У кожен лунку стрипи внести по 100 мкл кон'югату (п. 6.6.). Відрізати плівку необхідного розміру. Стрип закрити плівкою і інкубувати в термостаті 60 хв при 37 ° С або в термошейкер орбітального типу 30 хв при 37 ° С і 500 об / хв.

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

7.4. Після закінчення інкубації промити лунки 5 разів розчином для промивання, як описано в п. 7.2.

7.5. Внести в кожен лунку по 100 мкл розчину ТМБ (п. 6.7.) Та інкубувати у темряві протягом 25 хв при температурі від 18 до 25 ° С. Для внесення розчину ТМБ використовувати пластикову ванночку і одноразові наконечники.

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

### 8. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти величину оптичної щільності розчинів у лунках на спектрофотометрі вертикального сканування у двохвильовому режимі: основний фільтр - 450 нм, референсфільтр 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.

### 9. КОРОТКА СХЕМА ІФА

#### 9.1. ТЕРМОШЕЙКЕР

Додати: 100 по 100 мкл К +, К-;

по 90 мкл РРС і по 10 мкл цілісних досліджуваних сироваток.

Інкубувати: 30 хв, 37 ° С, 500 об. / хв.

Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.

Додати: по 100 мкл кон'югату.

Інкубувати: 30 хв, 37 ° С, 500 об. / хв.

Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.

Додати: по 100 мкл розчину ТМБ.

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

Додати: по 100 мкл стоп-реагенту.

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

## 9.2. ТЕРМОСТАТ

Додати: по 100 мкл К +, К-;  
по 90 мкл РРС і по 10 мкл цілісних досліджуваних сироваток.  
Інкубувати: 60 хв, 37 ° С.  
Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.  
Додати: по 100 мкл кон'югату.  
Інкубувати: 60 хв, 37 ° С.  
Промити: промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.  
Додати: по 100 мкл розчину ТМБ.  
Інкубувати: 25 хв, 18-25 ° С, в темряві.  
Додати: по 100 мкл стоп-реагенту.  
Виміряти: ВП при 450 нм / референсна довжина хвилі 620-655 нм.

## 10. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ РЕАКЦІЇ

**10.1.** Розрахувати середнє арифметичне значення оптичної густини у лунках з негативним контрольним зразком (ОГсер.К-).

**10.2.** Результати аналізу враховувати при дотриманні наступних умов:

- Значення ОГсер.К-повинно бути не більше 0,25 о.е.;

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

**10.3.** На підставі отриманих даних обчислити критичне значення оптичної густини (ОГкрит.) за формулою:

$$\text{ОГкрит.} = \text{ОГсер. К-} + 0,2$$

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

$$\text{КП} = \frac{\text{ОГзр.}}{\text{ОГкрит.}}$$

де ОГзр. - Оптична густина в лунці з досліджуваним зразком.

**10.4.** Якщо  $\text{КП} < 1$ , результат аналізу вважати негативним.

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

Коефіцієнт позитивності - зручна і проста величина для оцінки зміни концентрації IgM до НВсAg в динаміці.

**10.5.** При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображають зміну концентрації IgM до НВсAg в крові, необхідно використовувати набори реагентів одного найменування (одного підприємства-виробника).

## 11. 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.

Кількість використуваних 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

### Інтерпретація результатів серологічних тестів

КП HBcore IgM	Маркери HBV-інфекції	Возможные варианты определения стадии HBV-інфекції
$1 \leq \text{КП} \leq 2,5$	HBs Ag+ HBe Ag+/- HBcore IgG+/- HBe IgG -	Раня стадія HBV- інфекції
	HBs Ag+ HBcore IgG+ HBe Ag-/+ HBe IgG+/-	Хронічна інфекція
$\text{КП} \geq 5$	HBs Ag+ HBe Ag+/- HBcore IgG+ HBe IgG-/+	Остра фаза HBV- інфекції
$\text{КП} \leq 5$	HBs Ag+/- HBe Ag- HBcore IgG+ HBe IgG+ анти-HBs-	Пізня стадія острої інфекції
	HBs Ag- HBcore IgG+ HBe IgG+ анти-HBs+	Фаза реконвалесценції