

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту Дельта
«Геп D–антитіла-БЕСТ»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «Геп D–антитіла-БЕСТ» призначений для виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту Дельта в сироватці (плазмі) крові людини методом імуноферментного аналізу (ІФА).

2. ПРИНЦИП МЕТОДУ

Метод визначення заснований на твердофазному конкурентному імуноферментному аналізі.

3. СКЛАД НАБОРУ

- планшет з іммобілізованим антигеном вірусу гепатиту Дельта - 1 шт.
- позитивний контрольний зразок, інактивований (К+) - 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (К-) - 1 фл.;
- розчин для розведення сироваток (РРС) - 1 фл.;
- кон'югат моноклональних антитіл до вірусу гепатиту Дельта, мічених пероксидазою хрому - 1 фл.;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину с Твін (ФСБ-Т × 25) - 1 фл.;
- розчин тетраметілбензідіна (розчин ТМБ) - 1 фл.;
- стоп-реагент - 1 фл.;

Примітки. набір може додатково комплектуватися ванночками для реактивів, наконечниками для піпеток, плівкою для заклеювання планшетів.

4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийнятими 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, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ

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. ПІДГОТОВКА АНАЛІЗОВАНОГО ЗРАЗКА

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.

7. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

7.1. 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 хв.

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

7.3. ПРАВИЛА РОБОТИ ПРИ ДРОБОВОМУ ВИКОРИСТАННІ НАБОРУ

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

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

7.4. 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 ° C протягом усього терміну придатності.

7.5. 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 ° C до повного розчинення осаду.

Зберігання: до 5 діб при 2-8 ° C.

7.6. ПІДГОТОВКА КОН'ЮГАТУ

Відповідно до числом використовуваних стрипів (див. таблицю витрати компонентів) відібрати в пластикову ванночку для реагенту необхідну кількість кон'югату.

Залишки кон'югату з пластикової ванночки утилізувати (не зливати у флакон з вихідним кон'югатом!).

7.7. ПІДГОТОВКА РОЗЧИНУ ТМБ

Відповідно до числом використовуваних стрипів (див. таблицю витрати компонентів), відібрати в пластикову ванночку для реагенту необхідну кількість розчину ТМБ.

Залишки розчину ТМБ з пластикової ванночки утилізувати (не зливати у флакон з вихідним розчином ТМБ!). Для роботи з розчином ТМБ необхідно використовувати тільки одноразові наконечники.

8. ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Увага! Внесення контрольних та досліджуваних зразків проводити досить швидко, протягом 15-20 хв, тому що при більш тривалому внесенні зразків в лунки планшета час інкубації першого і останнього зразків значно відрізняються, що може призвести до неправильної оцінки результатів.

8.1. Внести контрольні зразки:

- 1 лунка - 100 мкл К+;
- 2 лунки - 100 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 цільної сироватки. Таким чином, кожна досліджувана сироватка в лунці розбавляється в 10 разів.

У всі лунки додати по 100 мкл кон'югату (п. 7.6.).

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

Відрізати липку плівку необхідного розміру. Стрипи закрити плівкою і інкубувати в термостаті 60 хв при температурі 37 ° C.

8.2. 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. 7.5.), 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, постукуючи перевернутим планшетом по фільтрувальному папері.

8.3. Внести до всіх лунок по 100 мкл розчину тетраметілбензідіна (п. 7.7.) і інкубувати у темряві протягом 25 хв при температурі від 18 до 25 ° C.

Для внесення розчину ТМБ використовувати пластикову ванночку і одноразові наконечники, що входять в комплект набору.

8.4. Реакцію зупинити додаванням в лунки по 100 мкл стоп-реагенту.

У разі попадання на шкіру розчину ТМБ або стоп-реагенту необхідно негайно змити їх водою з милом.

9. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти величину оптичної щільності розчинів у лунках на спектрофотометрі вертикального сканування 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 ретельного ознайомлення з інструкцією!

- Додати:** 100 мкл К + і К-;
по 90 мкл РРС і по 10 мкл досліджуваних зразків.
- Додати:** по 100 мкл кон'югату.
- Інкубувати:** 60 хв, 37 ° С.
- Промити:** розчином для промивання,
400 мкл, 5 разів.
- Додати:** по 100 мкл розчину тетраметілбензідіна.
- 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.

11. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ РЕАКЦІЇ

11.1. Розрахувати середнє арифметичне значення оптичної щільності у лунках з негативним контрольним зразком (ОЩср.К-).

Результати аналізу враховувати при дотриманні наступних умов:

- Значення оптичної щільності в лунці з позитивним контрольним зразком повинно бути не більше 0,4.
- Середнє значення оптичної щільності у лунках з негативним контрольним зразком повинно бути не менше 1,2.

11.2. На підставі отриманих даних обчислити критичне значення оптичної щільності (ОЩкріт.) за формулою:

$$\text{ОЩкріт.} = \text{ОЩср.К-} / 2.$$

11.3. Результат аналізу вважати позитивним, якщо $\text{ОЩобр.} \leq \text{ОЩкріт.}$;

результат аналізу вважати негативним, якщо $\text{ОЩобр.} > \text{ОЩкріт.}$,

де ОЩобр. - Оптична щільність в лунці з досліджуваним зразком.

11.4. При динамічному спостереженні пацієнта для отримання результатів, адекватно відображають зміну концентрації сумарних антитіл до вірусу гепатиту Дельта в крові, необхідно використовувати набори реагентів одного найменування (одного підприємства-виробника).

12. УМОВИ 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 в разі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.