

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Генеральний директор
ТОВ «Бест Діагностик»
_____ О.В. Шкурдай
«__» _____ 2012 р.

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення імуноглобулінів класу G до вірусу гепатиту G
«Геп G-IgG-БЕСТ»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

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

Набір реагентів може бути використаний в клінічних та епідеміологічних дослідженнях. Наявність в крові HGV - IgG свідчить про раніше перенесеної інфекції гепатиту G. Поточну інфекцію підтверджують виявленням в крові вірусної РНК.

2. ПРИНЦИПИ МЕТОДУ

Метод визначення заснований на двостадійному твердофазному імуноферментному аналізі із застосуванням рекомбінантного антигену вірусу гепатиту E2 G і моноклональних антитіл проти IgG людини.

3. СКЛАД НАБОРУ

- планшет розбірний з іммобілізованим на внутрішній поверхні лунок рекомбінантним антигеном вірусу гепатиту G - 1 шт.
- позитивний контрольний зразок, інактивований (К+) - 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (К-) - 1 фл.;
- кон'югат моноклональних антитіл до 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

4. 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.

5. 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.

6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ

6.1. Зразки сироватки (плазми) крові можна зберігати при температурі від 2 до 8 ° С не більше 5 діб або при температурі мінус 20 ° С (і нижче) не більше 6 міс.Допускається одноразове заморожування-розморожування зразків сироватки (плазми) крові. Після розморожування зразки ретельно перемішати.

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

7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

7.1.Перед роботою витягти набір з холодильника, розкрити упаковку і витримати всі компоненти при температурі від 18 до 25 ° С протягом часу не менше 1 ч.

7.2. Підготовка планшета.

Розкрити пакет з планшетом вище замку. Залишити на рамці необхідне для проведення аналізу кількість стрипів.Залишилися невикористаними стрипи негайно помістити знову в пакет, видалити з нього повітря і щільно закрити замок.

Невикористані стрипи можна зберігати при температурі від 2 до 8 ° С протягом усього терміну придатності.

7.3. Приготування розчину для промивання.

Внести в мірний циліндр необхідну кількість ФСБ-Т

осаду солей в концентраті необхідно прогріти його при температурі від 30 до 40 ° С до повного розчинення осаду.

У таблиці наведено витрати реагентів в залежності від кількості використовуваних стрипів.

Приготований розчин для промивання можна зберігати при температурі від 2 до 8 ° С не більше 5 діб.

7.4. Підготовка позитивного і негативного контрольних зразків.

Контрольні зразки готові до використання. Перед використанням струсити.

Контрольні зразки після першого розкриття флаконів можна зберігати при температурі від 2 до 8 ° С протягом усього терміну придатності.

7.5. Підготовка кон'югату.

Кон'югат готовий до використання.

Необхідна кількість кон'югату відібрати в пластикову ванночку для реагенту.

У таблиці наведено витрати реагентів в залежності від кількості використовуваних стрипів.

Кон'югат після першого розкриття флаконів можна зберігати при температурі від 2 до 8 ° С протягом усього терміну придатності.

7.6. Підготовка розчину тетраметілбензідіна.

Розчин тетраметілбензідіна готовий до використання.

Необхідна кількість розчину ТМБ плюс відібрати в пластикову ванночку для реагенту.

У таблиці наведено витрати реагентів в залежності від кількості використовуваних стрипів.

Розчин тетраметілбензідіна після першого розкриття флаконів можна зберігати при температурі від 2 до 8 ° С протягом усього терміну придатності.

7.7. Стоп-реагент готовий до використання.

8. ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

8.1. Внести контрольні зразки:

• **1 лунка** - 100 мкл К +;

• **2 лунки** - по 100 мкл-.

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 зразків.

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

Відрізати плівку необхідного розміру. Стрип закрити плівкою і інкубувати в термостаті 30 хв при 37 ° С.

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. 7.3.), 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 спороженням лунок повинно бути не менше 30 сек. Необхідно добиватися повного спороження лунок після кожного їх заповнення. Після закінчення промивання залишки вологи з лунок ретельно видалити, постукуючи перевернутим планшетом по фільтрувальному папері.

8.3. У всі лунки планшета внести по 100 мкл розчину кон'югату (п. 7.5).

Для внесення кон'югату використовувати ванночку для реагентів і одноразові наконечники.

Залишився після проведення ІФА кон'югат видалити з ванночки в посудину з дезінфікуючим розчином.

Планшет заклейти плівкою і інкубувати протягом 30 хв при температурі 37 □ 1 ° С.

8.4. Після закінчення другої інкубації видалити вміст лунок і промити планшет, як зазначено в п. 8.2.

8.5. Внести до всіх лунок по 100 мкл розчину ТМБ (див. п. 7.6).

Для внесення розчину ТМБ використовувати ванночку для реагентів і одноразові наконечники.

Планшет інкубувати захищеному від світла місці протягом 25 хв при температурі від 18 до 25 ° С.

Залишився після проведення ІФА розчин ТМБ видалити зі скляного флакона або пластикової ванночки в посудину з дезінфікуючим розчином.

8.6. Внести до всіх лунок по 100 мкл стоп-реагенту.

9. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти величину оптичної щільності розчинів у лунках на спектрофотометрі вертикального сканування у двоххвильовому режимі: при основній довжині хвилі 450 нм і довжині хвилі порівняння в діапазоні 620 - 655 нм; допускається вимір при довжині хвилі 450 нм (виведення спектрофотометра на нульовий рівень здійснювати по повітрю). Вимірювання проводити не пізніше 5 хвилин після зупинки реакції.

10. КОРОТКА СХЕМА ІФА

Використовувати тільки після уважного ознайомлення з інструкцією!

- Додати:** по 100 мкл К +, К-;
по 90 мкл РРС і по 10 мкл аналізованих зразків.
- Інкубувати:** 30 хв, 37 ° С.
- Промити:** промивання розчином, 400 мкл, 5 разів.
- Додати:** по 100 мкл розчину кон'югату.
- Інкубувати:** 30 хв, 37 ° С.
- Промити:** промивання розчином, 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 ОЩсрК-.

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

$$\text{ОЩкріт.} = \text{ОЩср. К-} + 0,3$$

11.3. Середнє значення ОЩ в лунках з К-не повинно перевищувати 0,25 од. опт. пл.

Значення оптичної щільності в лунці з позитивним контрольним зразком повинно перевищувати ОЩкріт. не менше ніж в 3 рази.

11.4. Тільки при дотриманні положень п. 11.3 можна враховувати результати, отримані для аналізованих зразків сироватки (плазми) крові.

11.5. Результат аналізу вважається позитивним, якщо $\text{ОЩобр.} \geq \text{ОЩкріт.}$

Результат аналізу вважається негативним, якщо $\text{ОЩобр.} < \text{ОЩкріт.}$

де: ОЩобр. - Оптична щільність в лунці з аналізованим зразком сироватки крові.

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

12. 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 – 12 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.