



Набор для определения специфических антител к вирусу Гепатита С в человеческой сыворотке или плазме. HCV Ab

Кат. номер : 137-E-HCV-1P
Количество : 96

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

Методика 11-2005

НАЗНАЧЕНИЕ

1. Для скрининга доноров крови.
2. Для мониторинга людей с более чем обычным риском контакта с гепатитом, например, пациентов, техперсонала, медобслуживающего персонала в заведениях почечного диализа или клинических лабораториях.
3. Как метод диагноза болезни печени.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Микропланшеты покрыты HCV специфическими синтетическими антигенами, взятыми из «ядерных» и «ns» областей, кодируемые под умеренные иммунодоминантные антигенные детерминанты (ядро, NS₃, NS₄ и NS₅).

Твердая фаза сначала обрабатывается разбавленным образцом и HCV антитела захватываются, при их наличии, антигенами.

После вымывания всех других компонентов образца, во второй инкубации связанные HCV антитела определяются добавлением анти HlgG антитела, меченным пероксидазой.

Фермент, схваченный в твердой фазе реактивный в смеси субстрата/хромогена, генерирует оптический сигнал, который пропорционален количеству анти HCV антител в образце.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

1. **Микроячейковые стрипы:** 1 планшет (96 тестов) 12 8-луночных полосок/планшет. Каждая ячейка планшета покрыта HCV специфическим антигеном и запечатана в алюминиевом мешке с силикагелевым пакетом как осушителем.
2. **Отрицательный контроль:** обычная человеческая сыворотка, неактивная к HBsAg, антителам к HCV и ВИЧ. Содержит азид натрия как консервант (1 фл./1,0 мл). **Готов к использованию.**
3. **Положительный контроль:** Неактивированная человеческая сыворотка с антителами к HCV высоких титров и неактивная к HBsAg и ВИЧ. Содержит азид натрия как консервант (1 фл./1,0 мл). **Готов к использованию.**
4. **Разбавитель образца:** Фосфатный буферизованный солевой раствор с Tween-20, содержащий прошедшую термообработку обычную козлиную и желатин. Содержит азид натрия как консервант (1 бут./20 мл). **Готов к использованию.**
5. **Конъюгат:** Фосфатный буферизованный солевой раствор с Tween-20, содержащий обычную козлиную сыворотку, стабилизатор протеина

- козлиный анти-человеческий IgG конъюгат пероксидазы хрена. Содержит тимеросал как консервант (2 бут./7,5 мл).
6. **Моющий раствор:** Концентрат (25x) буферизованный солевой раствор с Tween-20 (1 бут./80 мл).
7. **Хромоген А:** 1 бут./8 мл (содержащий гидропероксид).
8. **Хромогена В:** бут./8 мл (содержащий ТМВ).
9. **Стоп раствор:** 1 бут./7 мл (2 М H₂SO₄).
10. **Планшетные накрыватели** (для накрывания микропланшета во время инкубации): 4 шт.
11. **Инструкция пользователя:** 1 копия.

ТРЕБУЕМЫЕ НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Дистиллированная вода.
2. Ручные или автоматические пипетки на 10 мкл, 50 мкл, 100 мкл и 200 мкл.
3. Насадки для пипеток.
4. Таймер.
5. Микропланшетный миксер.
6. Инкубатор (37⁰С).
7. Автоматический микропланшетный промыватель.
8. Микропланшетный ридер с фильтром 450 нм и 630 нм.
9. Перчатки.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Образцы и контроил потенциально могут переносить инфекцию. Используйте перчатки при проведении анализа. После использования, уничтожайте перчатки. Тщательно мойте руки после работы.
2. Не заменяйте реагенты наборов разных лотов. Контроли, конъюгат и микропланшето оптимально подобраны. Используйте реагенты, поставляемые производителем.
3. Не используйте набор после истечения срока пригодности
4. бланк, положительный контроль и отрицательный контроль не следует анализировать в дубли на одном планшете при одной постановке.
5. Положительный контроль и отрицательный контроль не следует разбавлять.
6. Используйте только дистиллированную воду
7. Приведите все реагенты и материалы к комнатной температуре перед использованием.
8. Вынимайте планшет из пакета по необходимости. Неиспользованные стрипы следует хранить при 2-8 С в пластиковом пакете с осушителем.
9. разбавитель образца изменяет цвет при добавлении сыворотки или плазмы.
10. Не допускайте контакта ТМВ и перекиси с металлами или ионами металла, что может привести к формированию нежелательного окраса.
11. Избегайте контакта ТМВ и серной кислоты с кожей и слизистыми. При контакте промойте большим количеством воды. Немедленно обратитесь к врачу.
12. Следуйте руководствам при работе с инструментами.
13. неполная промывка влияет на качество полученных результатов.
14. Капли следует тщательно промыть 5,25% раствором гипохлорида натрия (отбеливатель).

УНИЧТОЖЕНИЕ НАБОРА

Уничтожайте все использованные образцы и материалы, как потенциально инфицированные. Наилучшим методом уничтожения является автоклавная обработка полчаса при 121С или выше. Использованный материал можно сжечь. Жидкие отходы не содержащие кислоту можно

смешать с гипохлоридом натрия в соотношении при котором конечная смесь будет содержать 10% гипохлорида натрия. Выдержите 30 минут для полной деконтаминации. Жидкие отходы, содержащие кислоту должны быть нейтрализованы пропорциональным количеством основы перед добавлением гипохлорида натрия.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

На данный иммуноанализ не влияет гемолиз образцов. Не наблюдалось необычных реакций в присутствии антикоагулянтов EDTA, цитрата натрия или гепарина.

ЗАБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Данный иммуноанализ можно проводить на человеческой сыворотке или плазме. Образцы, содержащие осадки или частицы вещества могут дать ошибочные результаты. При необходимости следует очистить образцы перед тестированием. Образцы **НЕ ДОЛЖНЫ** инактивироваться подогреванием перед анализом.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Раствор рабочего субстрата:

А. Необходимо приготовить непосредственно перед использованием. После приготовления раствор стабилен в течении 30 минут при комнатной температуре.

В. Перед использованием тщательно перемешайте хромоген А и хромоген В в чистой бутылке. По истечении 30 минут данный раствор будет нестабилен. Немедленно используйте после смешивания. Если требуется небольшое количество, внесите одинаковое количество хромогена А и хромогена В отдельно в чистую бутылку и перемешайте содержимое. Например, если Вам нужно 4 мл данного раствора, внесите 2 мл хромогена А и 2 мл хромогена В отдельно в чистую бутылку, затем все перемешайте.

2. Приготовление разбавленного концентрата промывочного раствора:

Разбавьте 1 объем концентрата промывочного раствора 24 объемами в дважды дистиллированной воды. Хорошо перемешайте.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор и его компоненты при 2-8⁰С, когда он не используется.
2. Храните концентрат мощного раствора при 2-8⁰С. При его длительном хранении раствор может помутнеть. Исполнение анализа невозможно.
3. Открытые, неиспользованные полоски должны храниться с поставляемым осушителем при 2-8⁰С в закрытом пакете.

НЕПРИГОДНОСТЬ

1. Видимые изменения реагентов могут указывать на непригодность этих материалов. Не используйте мутные реагенты, кроме мощного раствора и разбавителя образцов.
2. Субстрат должен быть бесцветным. Любое проявление окраса указывает на непригодность вещества и/или ТМВ.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Откройте пакет из фольги и выньте необходимое число стрипов. Оставшиеся стрипы поместите в пластиковый пакет с осушителем и запечатайте (смотрите пункт Хранение и стабильность). В процессе анализа полоски остаются в держателе.

2. Пипетируйте 100 мкл разбавителя образцов во все ячейки кроме 2 ячеек для положительного контроля и 2 ячеек для отрицательного контроля. Пипетируйте 100 мкл положительного контроля в две ячейки и 100 мкл отрицательного контроля в две ячейки. Пипетируйте 100 мкл разбавителя образца в оставшуюся ячейку в качестве бланка. (не добавляйте разбавителя к контролям).
3. Используя пипетку, внесите 10 мкл образца в помеченные ячейки. (не добавляйте образцы в ячейку бланка).
4. Накройте и инкубируйте 30 минут при 37С.
5. Промойте микропланшет 5 раз (300 мл/ячейку)
6. Промокните планшет абсорбирующей тканью
7. Добавьте 100 мкл конъюгата во все ячейки планшета.
8. Накройте и инкубируйте 30 минут при 37С.
9. Приготовьте рабочий раствор субстрата как указано выше.
10. Повторите процедуру промывания как в шаге 5 и 6.
11. Добавьте 100 рабочего раствора субстрата во все ячейки.
12. Накройте и инкубируйте 10 минут при 37С.
13. Добавьте 50 мкл стоп раствора в каждую ячейку, осторожно перемешайте.
14. Считайте абсорбцию при 450 нм. Если используется инструмент с двойным фильтром, референсная длина волны должна быть 620 или 630 нм.
15. ПРИМЕЧАНИЕ: Абсорбция должна быть считана в течении 30 минут после добавления стоп раствора.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СКРИНИНГОВОГО ТЕСТА

Перед интерпретацией от всех значений абсорбции контролей и образцов вычитается значение бланка. Присутствие или отсутствие специфического антитела к HCV определяется соотношением абсорбции образцов к величине исключения.

Аббревиации.

N = средн. абсорбция отрицательных контролей

P = средн. абсорбция положительных контролей

S = абсорбция тестового образца

Установите ячейку бланка, которую вы выбрали в качестве бланка, считайте абсорбцию остальных ячеек.

Вычисление значения cut-off

Величина исключения равна $P \times 10\% + N$

Если P выше или равна 2.500, принимайте P равным 2.500.

Тестовые результаты:

Тест положительный, если $S \geq$ величине исключения

Тест отрицательный, если $S <$ величине исключения

Проверка достоверности теста:

Тест достоверный если, $N < 0.050$ и $P > 0.800$

Пример: $P = 1.960$ $N = 0.012$

Величина исключения = $P \times 10\% + N$

$$= 1.960 \times 10\% + 0.012 = 0.208$$

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Образцы со значениями меньше чем величина исключения рассматриваются как неактивные за критериями иммуноанализа и могут приниматься как отрицательные к HCV. Дальше тестирование не нужно.
2. Образцы с абсорбцией выше или равно величине исключения рассматриваются как реактивные. Эти образцы (используя оригинальные образцы) необходимо повторно тестировать в дубле перед финальным подтверждением результатов.

3. Изначально реактивные образцы, что являются нереактивными в обоих из дублей, в повторных тестах принимаются как отрицательные к HCV. Дальнейшее тестирование не нужно.
4. Образцы, что повторно реактивные интерпретируются как положительные на присутствие антител к HCV. В большинстве случаев назначают дополнительные более специфические тесты.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»

ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.com

www.diameb.com