

HCV Antibody Test Kit

Un test imuno-enzimatic, pentru detectarea calitativă a anticorpilor IgG ai virusului Hepatitei C în plasmă sau ser uman. Numai pentru diagnostic in vitro, pentru utilizarea profesională.

HCV Antibody Test Kit este un test imuno-enzimatic pentru detectarea calitativă InVitro a anticorpilor IgG ai virusului Hepatitei C în plasmă sau ser uman.

Principii

Este un test de fază solidă, indirect și simultan, bazat pe principiul sandwich de detectare a anticorpilor IgG ai HCV în plasma sau ser uman. Antigenii recombinanți ai HCV sunt fixați de microplacă. În timpul testării, specimenul diluant și specimenii sunt adăugați pe microplaca alveolă acoperită cu antigeni HCV și incubate. Dacă specimenul conține anticorpi la HCV se vor lega de antigenii ce acoperă microplaca alveolă pentru a forma complexe imobilizate. Dacă specimenul nu conține anticorpi la HCV, atunci aceste complexe nu se vor forma. După incubarea inițială, placa microalveolă este spălată pentru a îndepărta materialele nefixate. Enzima conjugată anticorpi IgG anti-uman se adaugă pe microplacă și se incubează. Enzima conjugată anticorpi IgG anti-uman se vor lega de complexe prezente. După a doua incubare placa microalveolă este spălată pentru a îndepărta materialele nefixate. Substratul A și B sunt adăugate și incubate pentru a produce o reacție de culoare albastră indicând cantitatea de anticorpi HCV prezenți în specimen. Se adaugă o soluție de acid sulfuric pe placa microalveolă pentru a stopa reacția care produce o schimbare de culoare din albastru în galben. Intensitatea culorii care corespunde cantității de HbsAg, este măsurată cu un cititor de microplacă la 450/630-700 nm sau 450 nm.

Precauții

1. Numai pentru diagnostic in vitro, pentru utilizarea profesională. Nu utilizați după data de expirare.
2. Nu amestecați reagenții din diferite loturi sau kit-uri.
3. Preveniți contaminarea încrucișată dintre reagenți pentru a asigura rezultate corecte.
4. Urmăriți / realizați procedura de spălare pentru a asigura o performanță optimă a testului.
5. Acoperiți microplaca alveolă cu sigiliu pentru placă în timpul incubăției pentru a minimiza evaporarea.
6. Folosiți un vîrf de pipetă nou pentru fiecare specimen testat.
7. Asigurați-vă că fundul plăcii este uscat și curat și că suprafața lichidului nu conține bule înainte de citirea plăcii. Nu lăsați să se usuce godeurile în timpul testării.
8. Nu atingeți fundul godeurilor cu vîrfurile pipetei. Nu atingeți fundul microplăcii cu degetele.

Nu lăsați aburii să intre în contact cu microplaca în timpul testului, pentru că poate inhiba reacția de culoare.

Păstrare și Stabilitate

Test kit-urile nedeschise se depozitează la temperatura de 2-8°C la primire. Odată deschis, reagenții sunt stabili 1 lună de la prima deschidere dacă se păstrează la temperatura de 2-8°C. Permiteți pungii sigilate să atingă temperatura camerei înainte de a o deschide pentru a preveni condensarea pe microplacă. Buffer-ul pentru spălare concentrate se păstrează la temperatura camerei pentru a preveni cristalizarea. Nu expuneți reagenții, în special Substratul, la aburii de Hipoclorit sau lumină puternică. Nu depozitați Stop Soluția în vesela puțin adîncă sau în sticla de origine după utilizare.

Testul poate fi realizat doar utilizînd plasma sau ser uman colectat prin venipunctura singelui integru.

Componente:

Nr.	Reagenți	Descrierea componentului	Cantitatea
			96 god./kit
	HCV microplaca alveolă	Microplaca alveolă acoperită cu antigeni ai HCV	1 placă (96 godeuri/placă)
1	HCV conjugat	Antigeni recombinanți de HCV legați de peroxidază; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1 x 12 mL
2	Buffer pentru spălare concentrate (25x)	Tris-HCl buffer conține 0.1% Tween 20; Conservanți: 2% ProClin™ 300	1x 50 ml
2A	Specimen Diluant	Ser de Bovină; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x 12 ml
3	Substratul A	CB buffer conține sare de sodium luminol	1x8 ml
4	Substratul B	PB Buffer conține peroxid de Hidrogen	1x8 ml
5	Stop Soluția	0,5M de acid sulfuric	1x8 ml
5	HCV Control Negativ	Ser de Bovină; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x0,4 ml
6	HCV Control Pozitiv	Ser ce conține anticorpi HCV și negativ pentru HCV,HbsAg, HIV-1, și HIV-2; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x0,4 ml

Direcții de utilizare

Permiteți reagenților și specimenilor să atingă temperatura camerei înainte de testare (15-30 °C). Procedura trebuie urmată strict. Testul trebuie realizat în liumitele timpului. Pașii:

1. Prepară Bufferul pentru spălare gata de utilizare prin diluarea concentrației 1:25. Dacă sunt prezente cristale în Buffer- încălziți-l pînă la 37°C pînă se dizolvă cristalele.
2. Lăsați godeul A1 gol.
3. Adaugă 100 µl Specimen Diluant.
4. B1 și C1 : Adaugă 10 µL de Control Negativ. D1 și E1 : Adaugă 10 µL de Control Pozitiv. Începînd cu F1 adaugă cîte 10 µL de specimen.
5. Amestecați atent.Acoperiți microplaca alveolă cu sigiliu pentru placă și incubați la 37°C pentru 30 min.
6. Îndepărtați sigiliul pentru placă . Spălați fiecare godeu de 5 ori cu 350 µL de Buffer pentru spălare pregătित. Întoarceți microplaca invers pe un material absorbant.
7. Adăugați 100 µL de Conjugat în fiecare godeu, în afară de A1. Acoperiți microplaca alveolă cu sigiliu pentru placă și incubați la 37°C pentru 30 min.
8. Îndepărtați sigiliul pentru placă . Spălați fiecare godeu de 5 ori cu 350 µL de Buffer pentru spălare pregătित. Întoarceți microplaca invers pe un material absorbant.
- 9.
10. Adaugați 50 µL de Substrat A în fiecare godeu.
11. Adaugați 50 µL de Substrat B în fiecare godeu
12. Sau adaugați 100 µL de Soluție de Substrat gata de utilizare în fiecare godeu.
13. Amestecați și acoperiți, apoi incubați la 37°C timp de 10 min

14. Îndepărtați sigiliul pentru placă . Adugați 50 µL de stop soluție în fiecare godeu. Citiți la 450/630-700 nm în timp de 30 min

Controlul Calității

1. Calculați absorbția medie a Controlului Negativ și Pozitiv conform tabelului de mai jos:

Exemplu de calculare a Controlului Negativ

Item	Absorbție
Control Negativ : Godeu B1	0.014
Control Negativ : Godeu C1	0.012
Absorbția totală a Controlului Negativ	$0.014 + 0.012 = 0.026$
Absorbția medie a Controlului Negativ	$0.026/2 = 0.013$
Absorbția în godeul A1(gol)	0.006
CNx: Absorbția Medie a Controlului Negativ- Absorbția în godeul A1(gol)	$0.013 - 0.006 = 0.007$

2. Verificați cerințele validării de mai jos pentru a determina dacă rezultatele testului sunt valide.

Item	Cerințele Validării
Godeul gol	Absorbția în godeul gol trebuie să fie mai mică de <0.050 dacă e citit la 450/630-700 nm Trebuie să fie <0.100 dacă e citit la 450 nm
Control Negativ	Absorbția medie după scădere(absorbția în godeul gol) trebuie să fie mai mică de < 0.100
Control Pozitiv	Absorbția medie după scădere(absorbția în godeul gol) trebuie să fie mai mică de < 1.000

Notă: Rezultatele testului se consideră invalide dacă cerințele de mai sus nu se îndeplinesc.

3. Calculați valoarea limită folosind formula de mai jos, dacă testul este valid.

Item	Absorbție
CNx	0.007
Valoarea limită: $CNx+0.070$	$0.007 + 0.145 = 0.152$

Interpretarea Rezultatelor

Non – reactiv : Specimenii cu absorbție mai mică de valoarea limită sunt non-reactivi la anticorpi de HCV și poate fi considerat ca rezultat negativ.

Reactiv: Specimenii cu absorbția egală sau mai mare de valoarea limită sunt inițial considerați reactivi la anticorpi de HCV. Specimenii ar trebui retestați pentru o interpretare finală. Dacă un rezultat din aceste două testări este reactiv și unul negativ, se consideră reactiv și ar trebui de confirmat utilizând un test de confirmare. Dacă specimenii sunt non-reactivi la ambele testări , atunci se consideră rezultat non – reactiv.

Notă: Specimenii cu valori între +/- 10% din valoarea limită ar trebui retestați pentru o interpretare finală.