НоваЛіза®

Лептоспіри IgM

ІФА

CE

Тільки для діагностики in vitro

Інструкції з використання

REF LEPM0660 (96 визначень)

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua ,www.ivset.ua

Версія LEPM0660_IFU_rev01_fromLot_079N

УКРАЇНСЬКА

1. ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Leptospira IgM ІФА призначений для якісного визначення антитіл класу IgM проти Leptospira spp. в сироватці або плазмі людини (гепарин).

2. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Якісне імуноферментне визначення специфічних антитіл базується на методиці ІФА (імуноферментний аналіз).
Мікропланшети покриті специфічними антигенами для зв'язування відповідних антитіл зразка. Після промивання лунок для видалення всього незв'язаного матеріалу зразка додається кон'югат, мічений пероксидазою хрону (HRP). Цей кон'югат зв'язується із захопленими антитілами. На другому етапі промивання незв'язаний кон'югат видаляють. Імунний комплекс, утворений зв'язаним кон'югатом, візуалізується шляхом додавання субстрату тетраметилбензидину (ТМБ), який дає синій продукт реакції.
Інтенсивність цього продукту пропорційна кількості специфічних антитіл у зразку. Щоб зупинити реакцію, додають сірчану кислоту. Це створює жовтий колір кінцевої точки. Оптичну густину при 450/620 нм зчитують за допомогою пристрою для зчитування ІФА Мікропланшетів.

3. МАТЕРІАЛИ

3.1. Реагенти в наборі

- **мікропланшет:**12 розривних 8-лункових стріпів, покритих антигенами Leptospira; в алюмінієвій фользі, що закривається.
- **ДІЛ│M:** 1 флакон, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для розведення зразка; pH 7,2 ± 0,2; антилюдські IgG (RF Absorbent); пофарбовані в зелений колір; готовий до використання; білий ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) CMIT/MIT (3:1).
- **SOLN│СТОП:** 1 флакон, що містить 15 мл сірчаної кислоти, 0,2 моль/л; готовий до використання; червоний ковпачок.
- **WASH│BUF│20x:** 1 флакон, що містить 50 мл 20-кратно концентрованого фосфатного буфера (0,2 М), pH 7,2 ± 0,2, для промивання лунок; білий ковпачок; 0,2% (мас./об.) 5-бром-5-нітро-1,3-діоксану.
- **кон'югат:**1 флакон, що містить 20 мл міченого пероксидазою антитіла до IgM людини у фосфатному буфері (10 мМ); пофарбовані в червоний колір; готовий до використання; чорний ковпачок.
- **SUB│TMB:** 1 флакон містить 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (TMB), < 0,1 %; готовий до використання; жовтий ковпачок.
- **Позитивний контроль:**1 флакон, що містить 2 мл контролю; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; червоний ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) MIT.
- **Контроль пороговий:**1 флакон, що містить 3 мл контролю; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; зелений ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) MIT.
- **Негативний контроль:**1 флакон, що містить 2 мл контролю; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; синій ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) CMIT/MIT (3:1).

Заяви про небезпеку та застереження див11.1.

3.2. Матеріали поставлені

- 1 Фольга для покриття
- 1 Інструкція із застосування (IFU)

3.3. Необхідні матеріали та обладнання

- Зчитувач мікропланшетів ІФА, обладнаний для вимірювання поглинання при 450/620 нм
- Інкубатор 37 °C
- Ручне або автоматичне обладнання для промивання мікропланшетів
- Піпетки для доставки об'ємів від 10 до 1000 мкл
- Вихровий змішувач пробірок
- Дистильована вода
- Одноразові пробірки

4. СТІЙКІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати набор при 2...8 °C. Розкриті реагенти стабільні до терміну придатності, зазначеного на етикетці, за умови зберігання при 2...8 °C.

5. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Дуже важливо довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури (20…25 °C) і перемішати їх перед початком тестування!

5.1. Мікропланшет

Стріпи, що відриваються, покриті антигенами Leptospira. Одразу після видалення стріпів решту стріпів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із осушувачем, що постачається, і зберігати при 2...8 °C.

5.2. WASH│BUF│20x

Розбавити WASH│BUF│20x1 + 19; наприклад, 10 мл WASH│BUF│20x+ 190 мл дистильованої води. Розведений буфер (WASH│BUF│1x) стабільний протягом 5 днів при кімнатній температурі (20…25 °C). У разі появи кристалів у концентраті підігрійте розчин до 37 °C, наприклад, на водяній бані. Добре перемішайте перед розведенням.

5.3. SUB│TMB

Реагент готовий до використання і повинен зберігатися при 2...8 °C, захищеному від світла. SUB│TMB має бути безбарвним або мати легкий синій відтінок. Якщо SUB│TMБ стає синім, можливо, він забруднений і його слід викинути.

6. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Для цього аналізу використовуйте зразки сироватки або плазми (гепарин) людини. Якщо аналіз проводиться протягом 5 днів після відбору зразків, зразки повинні зберігатися при 2...8 °C; в іншому випадку їх слід розділити на аліквоти і зберігати в глибокій заморозці (-70…-20 °C). Якщо зразки зберігаються в замороженому вигляді, добре перемішайте розморожені зразки перед тестуванням. Уникайте повторного заморожування та розморожування. Теплова інактивація зразків не рекомендується.

6.1. Розведення зразка

Перед аналізом усі зразки слід розбавити 1+100ДІЛ│М. Роздайте 10 мкл зразка та 1 мл ДІЛ│М у пробірки для отримання розчину 1+100 і ретельно перемішайте за допомогою вихрового міксера.

7. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Перед проведенням аналізу уважно прочитайте інструкцію із застосування. Надійність результату залежить від суворого дотримання інструкції із застосування, як описано. Наведена нижче процедура перевірки перевірена лише для ручної процедури. При виконанні тесту на автоматичних системах ІФА ми рекомендуємо збільшити кроки промивання з трьох до п'яти та об'єм WASH│BUF│1xвід 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефекту промивання. Зверніть увагу на розділ11.Перед початком аналізу слід ретельно розробити план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів (рекомендовано дублікати). Виберіть потрібну кількість мікротитраційних стріпів або лунок і вставте їх у тримач. Виконайте всі етапи аналізу у вказаному порядку та без затримок.

Для дозування кожного стандарту/контролю та зразка слід використовувати чистий одноразовий наконечник.

Налаштуйте інкубатор на 37 ± 1 °C.

1. Розподіліть 100 мкл стандартів/контролів і розведених зразків у відповідні лунки. Залиште лунку A1 для бланка субстрату.
2. Накрийте лунки фольгою, що входить до набору.
3. **Інкубуйте протягом 1 години ± 5 хвилин при 37 ± 1 °C.**
4. Коли інкубація завершена, зніміть фольгу, аспіруйте вміст лунок і промийте кожну лунку тричі 300 мкл WASH│BUF│1x. Уникайте переливів з реакційних лунок. Інтервал між промиванням і аспірацією повинен становити > 5 секунд. Наприкінці обережно видаліть залишки рідини, постукуючи стріпами по абсорбентному паперу перед наступним кроком!

   Примітка: Миття - це важливо! Недостатнє промивання призводить до низької точності та помилкових результатів.
5. Розподіліть 100 мкл кон'югату в усі лунки, крім лунки A1 для бланка субстрату.
6. **Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (20...25 °C).**Не піддавати впливу прямих сонячних променів.
7. Повторіть крок 4.
8. Дозувати 100 мкл SUB│TMB в усі лунки.
9. **Інкубуйте рівно 15 хв при кімнатній температурі (20...25 °C) у темряві.** Синій колір виникає внаслідок ферментативної реакції.
10. Дозувати 100 мкл SOLN│СТОП в усі лунки в тому ж порядку та з тією ж швидкістю, що й для SUB│TMB, таким чином відбувається зміна кольору з синього на жовтий.
11. Виміряйте поглинання при 450/620 нм протягом 30 хвилин після додавання SOLN│СТОП.

7.1. Вимірювання

Відрегулюйте пристрій для зчитування мікропланшетів ІФА на нуль за допомогою бланка субстрату.

Якщо з технічних причин пристрій для зчитування ІФА Мікропланшетів не можна налаштувати на нуль за допомогою бланка субстрату, відніміть його значення поглинання з усіх інших виміряних значень поглинання, щоб отримати надійні результати!

Виміряйте поглинання всіх лунок при 450 нм і запишіть значення поглинання для кожного стандарту/контролю та зразка.

Рекомендується біхроматичне вимірювання з використанням еталонної довжини хвилі 620 нм.

Якщо можливо, розрахуйте середнє значення поглинання для всіх дублікатів.

8. РЕЗУЛЬТАТИ

8.1. Виконайте критерії перевірки

Для того, щоб аналіз вважався дійсним, слід суворо дотримуватися цих інструкцій щодо використання та відповідати таким критеріям:

- **Бланк субстрату**:Значення поглинання < 0,100
- **Негативний контроль**: Значення поглинання < 0,200 і < порогового значення
- **Контроль пороговий**:Значення поглинання 0,150 – 1,300
- **Позитивний контроль**: значення поглинання > порогове значення

Якщо ці критерії не відповідають, тест недійсний і його необхідно повторити.

8.2. Підрахунок результатів

Порогове значення – це середнє значення поглинання визначень порогового контролю.
приклад: Значення поглинання Пороговий контроль 0,44 + значення поглинання Пороговий контроль 0,42 = 0,86 / 2 = 0,43 Порогове значення = 0,43

8.2.1. Результати в одиницях [НТОД]

Значення поглинання зразка
(середнє) x 10 = [Одиниці NovaTec = НТОД]
порогове

приклад: 1,591 x 10 = 37 НТОД
0,43

8.3. Інтерпретація результатів

Порогове	10 НТОД	-
Позитивний	> 11 НТОД	Присутні антитіла проти збудника. Відбувся контакт з антигеном (збудником або вакциною).
Сумнівний	9 – 11 НТОД	Антитіла проти збудника чітко виявити не вдалося. Рекомендується повторити тест зі свіжим зразком через 2-4 тижні.
Негативний	< 9 НТОД	Зразок не містить антитіл проти збудника. Попередній контакт з антигеном (збудником або вакциною) малоймовірний.
Діагноз інфекційного захворювання не можна встановлювати на основі одного результату дослідження. Необхідно поставити точний діагноз взяти до уваги клінічну історію, симптоматику, а також серологічні дані. У пацієнтів з ослабленим імунітетом і новонароджених серологічні дані мають лише обмежене значення.		

8.3.1. Ізотипи антитіл і стан інфекції

Серологія	Значимість
IgM	Характеристика первинної реакції антитіл Високий титр IgM з низьким титром IgG: → свідчить про поточну або нещодавню інфекцію Рідко: → стійкий IgM
IgG	Характеристика вторинної реакції антитіл Може зберігатися протягом декількох років Високий титр IgG з низьким титром IgM: → може вказувати на інфекцію в минулому

9. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Результати відносяться до груп досліджуваних зразків; це не гарантовані характеристики.

9.1. Точність

В аналізі	**n**	**Середнє (E)**	**CV (%)**
#1	24	0,531	5.34
#2	24	1,070	3.32
#3	24	1,900	2.80

Між аналізами	**n**	**Середнє (НТОД)**	**CV (%)**
#1	12	20.74	4.35
#2	12	37,86	4,97
#3	12	6.79	8.10

9.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність негативного результату аналізу за відсутності конкретного аналіту. Це 96,0% (95% довірчий інтервал: 79,65% - 99,9%).

9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу в присутності конкретного аналіту. Це 100% (95% довірчий інтервал: 93,51% - 100%).

9.4. Вплив

Вплив з гемолітичними, ліпемічними або жовтяничними зразками не спостерігаються до концентрації 10 мг/мл гемоглобіну, 5 мг/мл тригліцеридів і 0,5 мг/мл білірубіну.

9.5. Перехресна реактивність

Не можна виключити, що зразки цитомегаловірусу, Treponema pallidum і Coxiella можуть призвести до хибнопозитивних результатів на антитіла IgM. Крім того, слід зазначити, що антитіла класу IgM, спрямовані проти Leptospira, зазвичай залишаються виявленими протягом місяців або навіть років, але в низькому титрі.

10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Бактеріальне забруднення або повторювані цикли заморожування-розморожування зразка можуть вплинути на значення поглинання.

11. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Необхідно суворо дотримуватися процедури тестування, інформації, запобіжних заходів і попереджень, наведених в інструкціях із застосування. Використання наборів тестів з аналізаторами та подібним обладнанням має бути перевірено. Будь-які зміни в дизайні, складі та процедурі тестування, а також будь-яке використання в поєднанні з іншими продуктами, не схваленими виробником, заборонені; користувач сам несе відповідальність за такі зміни. Виробник не несе відповідальності за помилкові результати та випадки з цих причин. Виробник не несе відповідальності за будь-які результати візуального аналізу зразків пацієнтів.
- Тільки для діагностики in vitro.
- Усі матеріали людського чи тваринного походження слід розглядати та обробляти як потенційно інфекційні.
- Усі компоненти людського походження, які використовуються для виробництва цих реагентів, були перевірені на антитіла до ВІЛ, антитіла до ВГС та HBsAg і були визнані нереактивними.
- Не замінюйте реагенти або мікропланшети різних партій виробництва.
- Разом з реагентами цього тест-набору не можна використовувати реагенти інших виробників.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
- Використовуйте лише чисті наконечники піпеток, дозатори та лабораторний посуд.
- Не міняйте гвинтові кришки флаконів з реагентами, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Щільно закрийте флакони з реагентами одразу після використання, щоб уникнути випаровування та мікробного забруднення.
- Після першого відкриття та подальшого зберігання перевірте флакони з кон'югатом і стандартом/контролем на наявність мікробного забруднення перед подальшим використанням.
- Щоб уникнути перехресного забруднення та хибно підвищених результатів, піпетуйте зразки пацієнтів і дозуйте реагенти, не розбризкуючи їх акуратно в лунки.
- ІФА призначений лише для кваліфікованого персоналу, який дотримується стандартів належної лабораторної практики (GLP).
- Для подальшого внутрішнього контролю якості кожна лабораторія повинна додатково використовувати відомі проби.

11.1. Правила безпеки для реагентів, що містять небезпечні речовини

Реагенти можуть містити CMIT/MIT (3:1) або MIT (див3.1).
Тому застосовуються наступні положення про небезпеку та запобіжні заходи.



УВАГА	H317	Може викликати шкірну алергічну реакцію.
	P261	Уникайте вдихання спрею.
	P280	Одягайте захисні рукавички/захисний одяг.
	P302+P352	У РАЗІ ПОТРАПЛЯННЯ НА ШКІРУ: промити великою кількістю води з милом.
	P333+P313	У разі подразнення шкіри або висипу: Зверніться за медичною допомогою/порадою.
	P362+P364	Зняти забруднений одяг і випрати його перед повторним використанням.

Реагенти можуть містити 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан (див.3.1).
Тому застосовуються наступні положення про небезпеку та запобіжні заходи.



УВАГА	H315	Викликає подразнення шкіри.
	H319	Викликає серйозне подразнення очей
	P280	Одягайте захисні рукавички/захисний одяг.
	P302+P352	У РАЗІ ПОТРАПЛЯННЯ НА ШКІРУ: промити великою кількістю води з милом.
	P305+P351+P338	ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промийте водою протягом кількох хвилин. Видалити контакт лінзи, якщо вони є та їх легко зробити. Продовжуйте полоскання.
	P337+P313	Якщо подразнення очей не проходить: Зверніться до лікаря.

Додаткову інформацію можна знайти в паспорті безпеки.

11.2. Зауваження щодо утилізації

Залишки хімічних речовин і препаратів зазвичай вважаються небезпечними відходами. Утилізація такого роду відходів регулюється національними та регіональними законами та правилами. Зв'яжіться з місцевими органами влади або компаніями з утилізації відходів, які нададуть поради щодо утилізації небезпечних відходів.

Інформацію про пакувальні матеріали див. у розділі ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ.

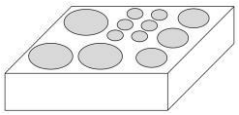
12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

REF	LEPM0660	Лептоспіри IgM	(96 визначень)

СКОРОЧЕННЯ

CMIT	5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он
MIT	2-метил-2H-ізотіазол-3-он

ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ

<table>
<tr><td>
PAP 21</td><td>
PAP 21</td><td>
PAP 22</td></tr>
<tr><td colspan="2">SOLN | СТОП   WASH | BUF | 20x   SUB | TMB   ДІЛ | M
CONJ   CONTROL | +   CONTROL | -   CUT OFF</td><td>MTP</td></tr>
<tr><td>
HDPE 2</td><td>
PP 5</td><td>
PET / ALU / LDPE 90</td></tr>
</table>

УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
	Містить біологічний матеріал людського походження
	Містить біологічний матеріал тваринного походження
UDI	Унікальна ідентифікація пристрою
	Дистриб’ютор
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

РЕЗЮМЕ ПРОЦЕДУРИ ДОСЛІДЖЕННЯ

СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ

Лептоспіри IgM

Підготовка до тесту

Підготуйте реагенти та зразки, як описано. Встановіть план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів. Виберіть потрібну кількість мікротитраційних стріпів або лунок і вставте їх у тримач.

Процедура аналізу

	Бланк субстрату (A1)	Негативний КОНТРОЛЬ	Пороговий КОНТРОЛЬ	Позитивний КОНТРОЛЬ	Зразок (розбавлений 1+100)
Негативний контроль	-	100 мкл	-	-	-
Контроль пороговий	-	-	100 мкл	-	-
Позитивний контроль	-	-	-	100 мкл	-
Зразок (розбавлений 1+100)	-	-	-	-	100 мкл
Накрийте лунки фольгою, що входить до набору **Інкубуйте протягом 1 години при 37 ± 1 °C** Промийте кожну лунку тричі 300 мкл **WASH BUF 1x**					
Кон'югат	-	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (20...25 °C) Не піддавати впливу прямих сонячних променів Промийте кожну лунку тричі 300 мкл **WASH BUF 1x**					
SUB TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубуйте рівно 15 хв при кімнатній температурі (20...25 °C) у темряві					
Стоп розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Фотометричне вимірювання при 450 нм (референтна довжина хвилі: 620 нм)					

Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH
Waldstrasse 23 A6
63128 Dietzenbach, Німеччина
тел.: +49 6074 23698-0
Факс: +49 6074 23698-900
Електронна пошта: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com
сайт: Clinical.goldstandarddiagnostics.com