

НоваЛіза[®]

Малярія



ІФА

CE

Тільки для діагностики *in vitro*

Інструкція з використання

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

REF

MAL0620 (96 визначень)

УКРАЇНСЬКА

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА-тест на малярію призначений для якісного визначення антитіл IgG/IgM проти плазмодія в сироватці або плазмі людини (цитрат, гепарин).

2. ПРИНЦИП ДОСЛІДЖЕННЯ

Якісне імуноферментне визначення специфічних антитіл базується на методі ІФА (імуноферментний аналіз).

Мікропланшети покривають специфічними антигенами для зв'язування відповідних антитіл зразка. Після промивання лунок для видалення всього незв'язаного матеріалу зразка додають кон'югат, мічений пероксидазою хрому (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, візуалізують шляхом додавання субстрату тетраметилбензидину (ТМБ), що дає синій продукт реакції.

Інтенсивність цього продукту пропорційна кількості специфічних антитіл у зразку. Для зупинки реакції додають сульфатну кислоту. Це призводить до жовтого забарвлення кінцевої точки. Поглинання при 450/620 нм зчитують за допомогою рідера мікропланшетів ІФА.

3. МАТЕРІАЛИ

3.1. Реагенти, що постачаються

- **Мікропланшет:** 12 розбірних 8-лункових стріпів, покритих рекомбінантними антигенами плазмодія (*P. falciparum*, *P. vivax*); у багаторазовій алюмінієвій фользі.
- **ПІЛ:** 1 пляшка, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для розведення зразка; рН 7,2 ± 0,2; жовтого кольору; готовий до використання спосіб використання; білий ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) СМІТ/МІТ (3:1).
- **СОЛН|СТОП:** 1 пляшка, що містить 15 мл сірчаної кислоти, 0,2 моль/л; готова до використання; червоний ковпачок.
- **WASH|BUF|20x:** 1 флакон, що містить 50 мл 20-кратно концентрованого фосфатного буфера (0,2 М), рН 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 мічених пероксидазою антитіл до людського IgG/IgM у фосфатному буфері (10 мМ); синього кольору; готовий до використання; чорний ковпачок.
- **SUB|TMB:** 1 флакон, що містить 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ), < 0,1%; готовий до використання; жовтий ковпачок.
- **Позитивний контроль:** 1 флакон, що містить 2 мл контролю; жовтого кольору; готовий до використання; червоний ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.
- **Контроль пороговий:** 1 флакон, що містить 3 мл контролю; жовтого кольору; готовий до використання; зелений ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.
- **Негативний контроль:** 1 флакон, що містить 2 мл контролю; жовтого кольору; готовий до використання; синій ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) СМІТ/МІТ (3:1). Щодо застережень та запобіжних заходів див. 11.1

3.2. Матеріали, що постачаються

- 1 Покривна фольга
- 1 Інструкція із застосування (ІЗЗ)

3.3. Необхідні матеріали та обладнання

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

4. СТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Зберігайте набір при температурі 2...8 °С. Відкриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, за умови зберігання при температурі 2...8 °С.

5. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Дуже важливо довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури (20...25 °С) та перемішати їх перед початком тестового запуску!

5.1. Мікропланшет

Розбірні стріпи покриті рекомбінантними антигенами плазмодія. Відразу після видалення стріпів решту стріпів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із доданим осушувачем та зберігати при температурі 2...8 °С.

5.2. **WASH|BUF|20x**

Розбавити WASH|BUF|20x 1 + 19; наприклад, 10 мл WASH|BUF|20x + 190 мл дистильованої води.

Розведений буфер (WASH|BUF|1x) є

стабільний протягом 5 днів за кімнатної температури (20...25 °С). У разі появи кристалів у концентраті, підігрійте розчин до 37 °С, наприклад, на водяній бані. Добре перемішайте перед розведенням.

5.3. SUB|TMB

Реагент готовий до використання та повинен зберігатися при температурі 2...8 °С, захищеному від світла місці. SUB|TMB має бути безбарвним або може мати легкий блакитний відтінок. Якщо SUB|TMB стає синім, можливо, він забруднився і його слід викинути.

6. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Використовуйте для цього аналізу зразки сироватки або плазми людини (цитрат, гепарин). Якщо аналіз проводиться протягом 5 днів після збору зразка, зразки слід зберігати при температурі 2...8 °С; в іншому випадку їх слід розділити на аліквоти та зберігати глибоко замороженими (-70...-20 °С). Якщо зразки зберігаються замороженими, добре перемішайте розморожені зразки перед тестуванням. Уникайте повторного заморожування та розморожування. Не рекомендується інактивація зразків теплом.

6.1. Розведення зразка

Перед аналізом усі зразки слід розбавити 1:100. Видайте 10 мкл зразка та 1 мл ДІЛ у пробірки для отримання розведення 1+100 та ретельно перемішайте за допомогою вортексу.

7. ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

Будь ласка, уважно прочитайте інструкцію з використання перед проведенням аналізу. Надійність результату залежить від суворого дотримання інструкцій з використання, як описано. Наведена нижче процедура тестування валідована лише для ручного проведення. Якщо тест проводиться на автоматичних системах ІФА, ми рекомендуємо збільшити кількість кроків промивання з трьох до п'яти, а об'єм WASH|BUF|1x від 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефектів промивання. Зверніть увагу на розділ 11. Перед початком аналізу слід ретельно скласти план розподілу та ідентифікації всіх зразків і стандартів/контролів (рекомендується дублікати). Виберіть необхідну кількість мікростріпів або лунок та вставте їх у тримач.

Виконуйте всі кроки аналізу у зазначеному порядку та без будь-яких затримок.

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

Налаштуйте інкубатор на 37 ± 1 °С.

1. Розлийте по 100 мкл стандартів/контролів та розведених зразків у відповідні лунки. Залиште лунку А1 для бланка субстрату.
2. Накрийте лунки фольгою, що постачається в наборі.
3. **Інкубувати протягом 1 години ± 5 хвилин при температурі 37 ± 1 °С.**
4. Після завершення інкубації зніміть фольгу, аспіруйте вміст лунок та промийте кожну лунку тричі по 300 мкл WASH|BUF|1x. Уникайте переливання з реакційних лунок. Інтервал між промиванням та аспірацією має бути > 5 секунд. Наприкінці обережно видаліть залишки рідини, постукуючи стріпами об паперові серветки, перш ніж переходити до наступного кроку!
Примітка: Промивання важливе! Недостатнє промивання призводить до низької точності та хибних результатів.
5. Розподіліть по 100 мкл кон'югату у всі лунки, окрім лунки А1 для бланка субстрату.
6. **Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °С).** Не піддавайте впливу прямих сонячних променів.
7. Повторіть крок 4.
8. Видайте 100 мкл SUB|TMB у всі лунки.
9. **Інкубуйте рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °С) у темряві.** Синє забарвлення виникає внаслідок ферментативної реакції.
10. Видайте 100 мкл СОЛН|СТОП у всі лунки в тому ж порядку та з тією ж швидкістю, що й для SUB|TMB, в результаті чого відбувається зміна кольору з синього на жовтий.
11. Виміряйте поглинання при 450/620 нм протягом 30 хвилин після додавання СОЛН|СТОП.

7.1. Вимірювання

Встановіть рідер мікропланшетів ІФА на нуль, використовуючи бланк субстрату.

Якщо з технічних причин рідер мікропланшетів ІФА неможливо налаштувати на нуль за допомогою бланка субстрату, відніміть його значення поглинання від усіх інших вимірних значень поглинання, щоб отримати достовірні результати!

Виміряйте поглинання усіх лунок при 450 нм та запишіть значення поглинання для кожного стандарту/контролю та зразка. Рекомендується біхроматичне вимірювання з використанням опорної довжини хвилі 620 нм.

Де це можливо, обчисліть середні значення поглинання всіх дублікатів.

8. РЕЗУЛЬТАТИ

8.1. Критерії валідації

Щоб аналіз вважався дійсним, необхідно суворо дотримуватися цих Інструкцій із застосування та відповідати наступним критеріям:

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

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

8.2. Розрахунок результатів

Порогове значення – це середнє значення поглинання для визначень порогового контролю.

Приклад: $\text{Значення поглинання порогового контролю } 0,44 + \text{ значення поглинання порогового контролю } 0,42 = 0,86 / 2 = 0,43$
Порогове значення = 0,43

8.2.1. Результати в одиницях [НТОД]

$\frac{\text{Значення поглинання зразка (середнє)} \times 10}{\text{порогове}} = [\text{Одиниці NovaТес} = \text{НТОД}]$

Приклад: $\frac{1,591 \times 10}{0,43} = 37 \text{ НТОД}$

8.3. Інтерпретація результатів

Порогове	10 НТОД	-
Позитивний	> 11 НТОД	Присутні антитіла проти збудника. Мав місце контакт з антигеном (збудником, відповідно вакциною).
Сумнівний	9 – 11 НТОД	Антитіла проти збудника не могли бути чітко виявлені. Рекомендується повторити тест зі свіжим зразком через 2-4 тижні.
Негативний	< 9 НТОД	Зразок не містить антитіл проти збудника. Попередній контакт з антигеном (збудником, відповідно вакциною) малоймовірний.

Діагноз інфекційного захворювання не слід встановлювати на основі результату одного тесту. Точний діагноз слід враховувати клінічний анамнез, симптоматику, а також серологічні дані.
У пацієнтів з ослабленим імунітетом та новонароджених серологічні дані мають лише обмежену цінність.

9. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕКСПЛУАТАЦІЇ

Результати стосуються досліджених груп зразків; це не гарантовані характеристики.

9.1. Точність

В аналізі	n	Середнє значення (E)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	24	0,456	10.21
#2	24	1.072	2.74
#3	24	0,931	4.52

Між аналізами	n	Середнє значення (НТОД)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	12	26.18	5.11
#2	12	22,74	7.20
#3	12	6.17	11.49

9.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність негативного результату аналізу за відсутності специфічного аналіту. Вона становить 97,53% (95% довірчий інтервал: 94,97% - 99,0%).

9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу за наявності специфічного аналіту. Вона становить 95,88% (95% довірчий інтервал: 91,7% - 98,33%).

9.4. Перешкоди

Вплив на гемолітичні, ліпемічні або жовтяничні зразки не спостерігається до концентрації гемоглобіну 10 мг/мл, тригліцеридів 5 мг/мл та білірубину 0,5 мг/мл.

9.5. Перехресна реактивність

Дослідження панелі зразків з активністю антитіл до потенційно перехресно реагуючих параметрів не виявило суттєвих доказів хибнопозитивних результатів внаслідок перехресних реакцій.

Особливу увагу слід приділяти у разі інфекцій, спричинених іншими найпростішими, такими як трипаносоми, лейшманії та токсоплазми.

10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Бактеріальне забруднення або повторні цикли заморожування-розморожування зразка можуть впливати на значення поглинання.


11. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Процедуру тестування, інформацію, запобіжні заходи та попередження, що містяться в інструкціях із застосування, необхідно суворо дотримуватися. Використання тестових наборів з аналізаторами та подібним обладнанням має бути валідованим. Будь-які зміни в конструкції, 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 хибні результати та інциденти з цих причин. Виробник не несе відповідальності за будь-які результати візуального аналізу зразків пацієнтів.
- Тільки для діагностичного використання *in vitro*.
- Усі матеріали людського або тваринного походження слід розглядати та обробляти як потенційно інфекційні.
- Усі компоненти людського походження, що використовуються для виробництва цих реагентів, були протестовані на наявність антитіл до ВІЛ, антитіл до ВГС та HBsAg і виявилися нереактивними.
- Не заміняйте реагенти або мікро планшети різних виробничих партій.
- Не можна використовувати реагенти інших виробників разом з реагентами цього тестового набору.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
- Використовуйте лише чисті наконечники піпеток, дозатори та лабораторне посуд.
- Не мийте місцями кришки флаконів з реагентами, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Щільно закривайте флакони з реагентами одразу після використання, щоб уникнути випаровування та мікробного забруднення.
- Після першого відкриття та подальшого зберігання перевірте флакони з кон'югатом та стандартом/контролем на наявність мікробного забруднення перед подальшим використанням.
- Щоб уникнути перехресного забруднення та хибно завищених результатів, піпетуйте зразки пацієнтів та дозуйте реагенти точно в лунки, не розбризкуючи їх.
- ІФА призначений лише для кваліфікованого персоналу, який дотримується стандартів належної лабораторної практики (GLP).
- Для подальшого внутрішнього контролю якості кожна лабораторія повинна додатково використовувати відомі зразки.

11.1. Примітка щодо безпеки для реагентів, що містять небезпечні речовини


Реагенти можуть містити СМІТ/МІТ (3:1) або МІТ (див.3.1).

Таким чином, застосовуються наступні заяви про безпеку та запобіжні заходи.

	УВАГА	H317 P261 P280	Може викликати алергічну шкірну реакцію. Уникайте вдихання аерозолю. Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг. ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою
		R302+P352	кількістю води з милом.
		R333+P313	Якщо виникне подразнення шкіри або висип: зверніться за медичною допомогою/консультацією.
		R362+P364	Зніміть забруднений одяг та виперіть його перед повторним використанням.

Реагенти можуть містити 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан (див.3.1).

Таким чином, застосовуються наступні заяви про безпеку та запобіжні заходи.

	УВАГА	H315 H319 P280	Викликає подразнення шкіри. Викликає серйозне подразнення очей. Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг. ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з
		R302+P352	милом.
		R305+P351+P338	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ В ОЧІ: Обережно промивайте водою протягом кількох хвилин. Зніміть контактні лінзи.
		R337+P313	лінзи, якщо вони є і їх легко зняти. Продовжуйте промивання. Якщо подразнення очей не проходить: зверніться за медичною допомогою/консультацією.

Додаткову інформацію можна знайти в паспорті безпеки.

11.2. Міркування щодо утилізації

Залишки хімічних речовин та препаратів зазвичай вважаються небезпечними відходами. Утилізація таких відходів регулюється національними та регіональними законами та нормативними актами. Зверніться до місцевих органів влади або компанії з управління відходами, які нададуть вам поради щодо утилізації небезпечних відходів.

Інформацію про пакувальні матеріали див. у розділі ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ.


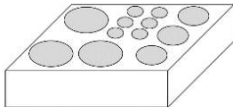




12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

REF	MAL0620	Малярія	(96 визначень)
-----	---------	---------	----------------












СКОРОЧЕННЯ

СМІТ	5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он
МІТ	2-метил-2Н-ізотіазол-3-он

ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ

 <p>ПАП 21</p>	 <p>ПАП 21</p>	 <p>ПАП 22</p>
<p>SOLN STOP WASH BUF 20x SUB TMB ДІЛ</p> <p>CONJ CONTROL + CONTROL - CUT OFF</p>		<p>MTP</p>
 <p>HDPE 2</p>	 <p>PP 5</p>	 <p>PET / ALU / LDPE 90</p>

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

Малярія

Підготовка до тесту

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

Процедура аналізу

	Бланк субстрату (A1)	Негативний КОНТРОЛЬ	Пороговий КОНТРОЛЬ	Позитивний КОНТРОЛЬ	Зразок (розведений 1+100)
Негативний контроль	-	100 мкл	-	-	-
Контроль пороговий	-	-	100 мкл	-	-
Позитивний контроль	-	-	-	100 мкл	-
Зразок (розведений 1+100)	-	-	-	-	100 мкл
Накрийте лунки фольгою, що постачається в наборі Інкубувати протягом 1 години при температурі 37 ± 1 °C Промийте кожну лунку тричі по 300 мкл WASH BUF 1x					
Кон'югат	-	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) Не піддавайте впливу прямих сонячних променів Промийте кожну лунку тричі по 300 мкл WASH BUF 1x					
SUB TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубувати рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) у темряві					
SOLN STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Фотометричне вимірювання при 450 нм (опорна довжина хвилі: 620 нм)					

Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Вальдштрассе 23 А6

63128 Дітценбах, Німеччина

Тел.: +49 6074 23698-0

Факс: +49 6074 23698-900

Електрон

на пошта: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

Вебсайт: clinical.goldstandarddiagnostics.com