Вірус чуми собак VetLine (CDV)

ІФА

Тільки для ветеринарної діагностики in vitro.

Імуноферментний аналіз для якісного визначення антитіл проти вірусу чуми собак (CDV) у ветеринарній сироватці крові.

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

Номер продукту: MEAVT0330 (96 визначень)

УКРАЇНСЬКА

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА-тест VetLine Canine Distemper Virus (CDV) призначений для якісного визначення антитіл проти вірусу чуми собак (CDV) у ветеринарній сироватці крові. Завдяки використанню багатовидового кон'югату, його також слід використовувати для інших видів ссавців.

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 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, 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 антигенами вірусу чуми собак (CDV); у багаторазовій алюмінієвій фользі.
- **Буфер для розведення зразка:**1 пляшка, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для розведення зразка; pH 7,2 ± 0,2; жовтого кольору; готовий до використання; біла ковпачок; ≤ 0,0015 % (об./об.) CMIT/MIT (3:1).
- **Стоп розчин:**1 пляшка, що містить 15 мл сірчаної кислоти, 0,2 моль/л; готовий до використання; червона ковпачок.
- **Промивний буфер (20-кратна концентрація):** 1 флакон, що містить 50 мл 20-кратної концентрації 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 пероксидазно-міченого білка A/G; жовтого кольору; готовий до використання; білий ковпачок; ≤ 0,02 % (об./об.) MIT.
- **Розчин субстрату ТМБ:**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; жовтого кольору; готовий до використання; червоний ковпачок; ≤ 0,02 % (об./об.) MIT.
- **Контроль пороговий:**1 флакон, що містить 3 мл; жовтого кольору; готовий до використання; зелений ковпачок; ≤ 0,02 % (об./об.) MIT.
- **Негативний контроль:**1 флакон, що містить 2 мл; жовтого кольору; готовий до використання; синій ковпачок; ≤ 0,0015 % (об./об.) CMIT/MIT (3:1).

Щодо небезпеки 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 °C
- Ручне або автоматичне обладнання для промивання лунок мікротитровальних планшетів
- 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 °C. Відкриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, за умови зберігання при температурі 2...8 °C.

5. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

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

5.1. Мікропланшет

Розбірні стріпи покриті антигенами вірусу чуми собак (CDV). Відразу після видалення стріпів решту стріпів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із доданим осушувачем та зберігати при температурі 2...8 °C.

5.2. Промивний буфер (20x конц.)

Розведіть промивний буфер 1 + 19; наприклад, 10 мл промивного буфера + 190 мл дистильованої води. Розведений буфер стабільний протягом 5 днів за кімнатної температури (20…25 °C). У разі появи кристалів у концентраті, підігрійте розчин до 37 °C, наприклад, на водяній бані. Добре перемішайте перед розведенням.

5.3. Розчин субстрату ТМБ

Реагент готовий до використання та повинен зберігатися при температурі 2...8 °C, захищеному від світла місці. Розчин має бути безбарвним або мати легкий блакитний відтінок. Якщо субстрат посиніє, можливо, він забруднений і його слід викинути.

6. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Використовуйте зразки сироватки крові собак для цього аналізу. Якщо аналіз проводиться протягом 5 днів після збору зразка, зразки слід зберігати при температурі 2...8 °C; в іншому випадку їх слід розділити на аліквоти та зберігати у глибоко замороженому вигляді (-70...-20 °C). 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 розвести у співвідношенні 1+100 буфером для розведення зразків. Розлийте 10 мкл зразка та 1 мл буфера для розведення зразків у пробірки, щоб отримати 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 та об'єм промивного буфера з 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефектів промивання. Зверніть увагу на розділ 11. Перед початком аналізу слід ретельно скласти план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів (рекомендуються дублікати). Виберіть необхідну кількість мікротитровальних стріпів 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 °C.

1. Розлийте по 100 мкл стандартів/контролів та розведених зразків у відповідні лунки. Залиште лунку A1 для бланка субстрату.
2. Накрийте лунки фольгою, що постачається в наборі.
3. **Інкубувати протягом 1 години ± 5 хвилин при температурі 37 ± 1 °C.**
4. Після завершення інкубації зніміть фольгу, аспіруйте вміст лунок та промийте кожну лунку тричі по 300 мкл промивного буфера. Уникайте переливання з реакційних лунок. Інтервал між промиванням та відсмоктуванням має бути > 5 секунд. В кінці обережно видаліть залишки рідини, постукуючи стріпами об папір, 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 A1 для бланка субстрату.
6. **Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C).** Не піддавайте впливу прямих сонячних променів.
7. Повторіть крок 4.
8. Роздайте 100 мкл розчину субстрату ТМБ у всі лунки.
9. **Інкубуйте рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) у темряві.** Синє забарвлення виникає внаслідок ферментативної реакції.
10. Внесіть по 100 мкл стоп-розчину у всі лунки в тому ж порядку та з тією ж швидкістю, що й для розчину субстрату ТМБ, таким чином відбудеться зміна кольору з синього на жовтий.
11. Виміряйте поглинання при 450/620 нм протягом 30 хвилин після додавання стоп-розчину.

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, віднімiть його значення поглинання від усіх інших виміряних 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 перевірки виконання

Щоб аналіз вважався валідним, 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 : Значення поглинання порогового контролю 0,44 + значення поглинання порогового контролю 0,42 = 0,86 / 2 = 0,43

Порогове значення = 0,43

8.2.1. Результати в одиницях [НТОД]

$$\frac{\text{Значення поглинання зразка (середнє) x 10}}{\text{Відсікання}} = \text{[Одиниці NovaTec = НТОД]}$$

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

8.3. Інтерпретація результатів

Діапазон нормальних значень для цього ІФА має встановлюватися кожною лабораторією на основі власних зразків у географічних районах, що обслуговуються.

Наступні значення слід розглядати як орієнтир:

Порогове	6,5 НТОД	-
Позитивний	> 7 НТОД	Присутні антитіла проти збудника. Мав місце контакт з антигеном (збудником, відповідно вакциною).
Сумнівний	6 – 7 НТОД	Антитіла проти збудника не могли бути чітко виявлені. Рекомендується повторити тест зі свіжим зразком через 2-4 тижні.
Негативний	< 6 НТОД	Зразок не містить антитіл проти збудника. Попередній контакт з антигеном (збудником, відповідно вакциною) малоймовірний.

Діагноз інфекційного захворювання не слід встановлювати на основі результатів одного тесту. Точний діагноз повинен враховувати клінічний анамнез, симптоматику, а також серологічні дані.

9. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕКСПЛУАТАЦІЇ

Результати стосуються досліджених груп зразків; це не гарантовані характеристики.

Дані щодо ефективності були отримані з використанням вибраних зразків сироватки. Через природу кон'югату білка A/G цей ІФА повинен реагувати також і з іншими видами ссавців. Більш детальна інформація доступна за запитом.

9.1. Точність

В аналізі	н	Середнє значення (E)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	24	0,314	6.93
#2	24	0,931	3.70
#3	24	0,718	9.98

Між аналізами	н	Середнє значення (НТОД)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	12	33,93	2.76
#2	12	28.09	7.46
#3	12	3.85	12.11

9.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність негативного результату аналізу за відсутності специфічного аналіту.
Діагностична специфічність у собак: 92,31 % (95% довірчий інтервал: 63,97% - 99,81%)

9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу за наявності специфічного аналіту.
Діагностична чутливість у собак: 96,88 % (95% довірчий інтервал: 83,78% - 99,92%)

9.4. Вплив

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

9.5. Перехресна реактивність

Не можна виключати перехресних реакцій.

10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

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

11. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Процедуру випробування, 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 випробування, 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.
- Тільки для ветеринарної діагностики 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 замінюйте реагенти або стріпи 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 міняйте 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 знайомий з належною лабораторною практикою.
- 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 CMIT/MIT (3:1) або MIT (див. 3.1).
Таким чином, застосовуються наступні заяви про небезпеку та запобіжні заходи.



УВАГА	H317	Може викликати алергічну шкірну реакцію.
	П261	Уникайте вдихання аерозолю.
	П280	Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг.
	P302+P352	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з милом.
	P333+P313	Якщо виникне подразнення шкіри або висип: зверніться за медичною допомогою/консультацією.
	P362+P364	Зніміть забруднений одяг та виперіть його перед повторним використанням.

Реагенти можуть містити 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан (див. 3.1). Тому застосовуються наступні застереження та вказівки щодо небезпеки.



УВАГА	H315	Викликає подразнення шкіри.
	H319	Викликає серйозне подразнення очей.
	П280	Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг.
	P302+P352	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з милом.
	P305+P351+P338	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ В ОЧІ: Обережно промивайте водою протягом кількох хвилин. Зніміть контактні лінзи. якщо є і це легко зробити. Продовжуйте промивання.
	P337+P313	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 компаній з управління відходами, які нададуть вам поради щодо утилізації небезпечних відходів.

Інформацію про пакувальні матеріали див. у розділі ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ.

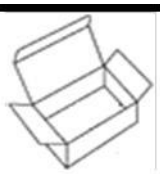
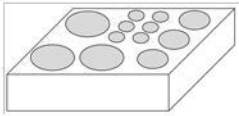
12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

Номер виробу: MEAVT0330 ІФА VetLine на вірус чуми собак (CDV) (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>
<td>
PAP 22</td>
</tr>
<tr>
<td colspan="3">SOLN | STOP
WASH | BUF | 20x
SUB | TMB
DIL
CONJL
CONTROL | +
CONTROL | -
CUT OFF

HDPE 2

PP 5</td>
<td>MTP

PET / ALU / LDPE 90</td>
</tr>
</table>

18 років

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 ВИПРОБУВАННЯ

СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ

ІФА-тест VetLine на вірус чуми собак (CDV)

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±°C** Промийте кожну лунку тричі 300 мкл промивного буфера					
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 300 мкл промивного буфера					
Субстрат ТМБ розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубувати рівно 15 хвилин за кімнатної температури (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