

НоваЛіза[®]

Бартонелла

ІФА

CE

Тільки для діагностики *in vitro*

Інструкції 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

BAR0900 (96 визначень)



1. ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА-тест на бартонельоз призначений для якісного визначення специфічних антитіл проти бартонельозу в сироватці або плазмі людини (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

Мікروتитровальний планшет: 12 відламуваних 8-лункових стріпів, покритих антигенами бартонельозу; у багаторазовій алюмінієвій фользі.

PL: 1 пляшка, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для буфера для розведення зразка; рН 7,2 ± 0,2; жовтий; готовий до 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 ка.

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; біла ковпачок; 0,2% (мас./об.) 5-бром-5-нітро-1,3-діоксану.

Кон'югат: 1 флакон, що містить 20 мл пероксидазно-міченого білка А/Г; синього кольору, готовий до використання; чорний ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.

SUB | ТМБ: 1 флакон, що містить 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ), < 0,1%; готовий до використання; жовта 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 (I33)

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 мікروتитровальних 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 °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. Мікротитрувальний планшет

Розбірні стріпи покриті антигенами бартонельозу. 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 | 20x1 + 19; наприклад, 10 мл WASH | BUF | 20x+ 190 мл дистильованої води. Розведений буфер (WASH | BUF | 1x) 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 °C, 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 зразки сироватки або плазми крові людини (гепарин) 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 глибоко замороженими (-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. Буфер для розведення зразка

Перед аналізом усі зразки слід розбавити 1:100ДІЛ. Видайте 10 мкл зразка та 1 млДІЛ 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 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 А1 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 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 °C).** 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 °C) 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 перевірки виконання

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

- **Заготовка 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.

Прикла Значення поглинання порогового контролю 0,44 + значення поглинання порогового контролю
д: $0,42 = 0,86 / 2 = 0,43$

Порогове значення = 0,43

8.2.1. Результати в одиницях [НТОд]

Значення поглинання зразка
(середнє) $\times 10 =$ [Одиниці NovaТес = НТОд]

Порогове

Приклад: $\frac{1,591 \times 10}{0,43} = 37$ 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 | н | Середнє значення (Е) | Коефіцієнт варіації (%) |
|-----------|----|----------------------|-------------------------|
| #1 | 24 | 0,380 | 13.14 |
| #2 | 24 | 2.068 | 3.25 |
| #3 | 24 | 0,996 | 7.35 |

| Між аналізами | н | Середнє значення (НТОд) | Коефіцієнт варіації (%) |
|---------------|----|-------------------------|-------------------------|
| #1 | 12 | 7.74 | 8.75 |
| #2 | 12 | 42.12 | 12.47 |
| #3 | 12 | 25.12 | 7.82 |

9.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність негативного результату аналізу за відсутності специфічного аналіту. Вона становить 94,3 % (95 % – ширина ДІ: 89,13 % – 97,52 %).

9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу за наявності специфічного аналіту. Вона становить 100 % (95 % – ширина ДІ: 89,42 % – 100 %).

9.4. Вплив

Вплив на гемолітичні, ліпемічні або жовтяничні зразки або зразки, що містять високий рівень альбуміну, не спостерігається до концентрації гемоглобіну 10 мг/мл, тригліцеридів 5 мг/мл, білірубіну 0,5 мг/мл та альбуміну 60 мг/мл.

9.5. Перехресна реактивність

Дослідження панелі зразків з активністю антитіл проти Coxiella, EBV, Mycoplasma, ревматоїдного фактора та ANA не виявило суттєвих доказів хибнопозитивних результатів через перехресні реакції.

Можлива перехресна реактивність антигенів з антитілами проти Bartonella quintana, Brucella, Chlamydia pneumoniae, рикетсій та трепонеми.

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 замінійте реагенти або мікротитровальні 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 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 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 | Може викликати алергічну шкірну реакцію. |
| | | P261 | Уникайте вдихання аерозолі. |
| | | P280 | 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).

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

| | | | |
|---|--------------|----------------|--|
|  | УВАГА | H315 | Викликає подразнення шкіри. |
| | | H319 | Викликає серйозне подразнення очей |
| | | P280 | 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. |
| | | 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

ПОС
ИЛА
ННЯ

BAR0900


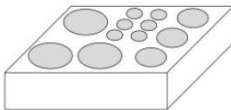




Бартонелла

(96 лунок)

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 DIL CONJG CONTROL + CONTROL - CUT OFF</p> | | <p>МТП</p> |
|  <p>ПНД 2</p> |  <p>ПП 5</p> |  <p>ПЕТ / АЛЮМІНІЙ / ПЕНД 90</p> |

СИМВОЛИ
























| | |
|---|--|
| | Виробник |
|  | Медичний виріб для In Vitro діагностики |
|  | Номер лоту |
|  | Термін придатності |
|  | Температура зберігання |
|  | СЕ маркування |
|  | Унікальний ідентифікатор пристрою |
|  | Каталожний номер |
| | Інструкція для використання |
|  | Мікропланшет |
|  | Кон'югат |
|  | Негативний контроль |
|  | Позитивний контроль |
|  | Пороговий контроль |
|  | Розчинник буфера зразків |
|  | Стоп розчин |
|  | ТМБ розчин субстрату |
|  | “Промивний буфер концентрований (20x)”;  |
|  | 20-кратний розчинник    /  / |
|  | Містить достатньо для “n” тестів |

СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ

Бартонелла

Підготовка до аналізу

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

| | Заготовка 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) | | | | | |

Золотий стандарт діагностики Франкфурт ГмБХ

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