

НоваЛіза[®]

Дифтерійна паличка токсин, антитіла IgG 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

CORG0090 (96 визначень)

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА-тест IgG до токсину *Corynebacterium diphtheriae* призначений для кількісного визначення антитіл класу IgG проти токсину *Corynebacterium diphtheriae* у сироватці або плазмі людини (цитрат, гепарин).

2. ПРИНЦИП ДОСЛІДЖЕННЯ

Кількісне імуоферментне визначення специфічних антитіл базується на методі ІФА (імуоферментний 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, що відламуються, покритих антигенами токсину (анатоксину) *Corynebacterium diphtheriae*; у багаторазовій алюмінієвій фользі.
 - **ДІЛ:** 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; біла 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 у фосфатному буфері (10 мМ); синього кольору; готовий до використання; чорний ковпачок.
 - **SUB | ТМБ:** 1 флакон, що містить 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ), < 0,1%; готовий до використання; жовтий ковпачок.
 - **Стандарти:** 4 флакони, кожен з яких містить 2 мл стандарту; жовтого кольору; готові до використання; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.

Стандарт А:	0,000	МОД/мл; синій ковпачок
Стандарт Б:	0,015	МОД/мл; зелений ковпачок
Стандарт С:	0,075	МОД/мл; жовтий ковпачок
Стандарт D:	0,150	МОД/мл; червоний ковпачок
- Стандарти калібровані відповідно до "1^{вул} Міжнародний стандарт для дифтерійного антитоксину людини IgG (ВООЗ, 2012).

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 абсорбції 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 антигенами токсину (анатоксину) *Corynebacterium diphtheriae*. 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 °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 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 видалити.

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 °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. 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 із застосування перед проведенням аналізу. Надійність результату залежить від суворого дотримання інструкцій із застосування, як описано. Наступна процедура тестування валідована лише для ручного проведення. Якщо ви проводите тест на

ІФА

автоматичний з **WASH|BUF|1x** У системах ми рекомендуємо збільшити кількість кроків прання з трьох до п'яти, а також об'єм від 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефектів промивання. Зверніть увагу на розділ 11. Перед початком аналізу,

Слід ретельно розробити план розподілу та ідентифікації 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 комплекті.
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, постукаючи 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 A1 для бланка субстрату.
6. **Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C).** Не надавайте 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 мікротитровальних планшетів ІФА неможливо налаштувати на нуль за допомогою бланка субстрату, відніміть його значення абсорбції від усіх інших вимірних значень абсорбції, щоб отримати достовірні результати!

Виміряйте поглинання усіх лунок при 450 нм та запишіть значення абсорбції 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:

- **Бланк субстрату:** Значення поглинання < 0,100
- **Стандарт А:**Значення поглинання < 0,200
- **Стандарт В:** Значення поглинання > 0,100
- **Стандарт С:**Значення поглинання > 0,500
- **Стандарт D:**Значення поглинання > 1,000

Стандарт А < Стандарт В < Стандарт С < Стандарт D

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

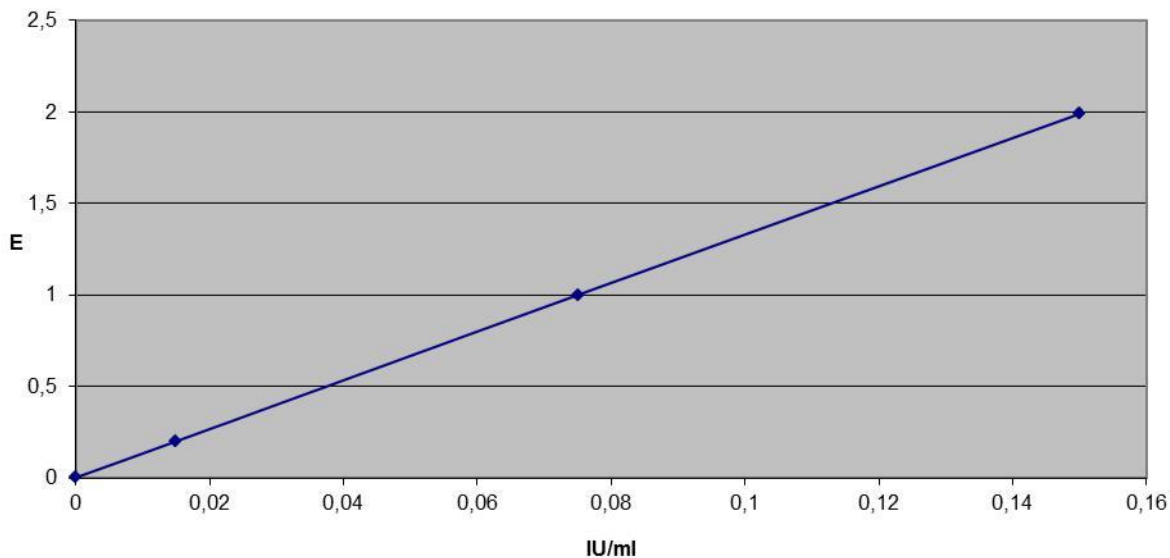
8.2. Розрахунок результатів

Щоб отримати кількісні результати в МОД/мл, нанесіть (середні) значення абсорбції 4 стандартів А, В, С та D на (лінійний/лінійний) міліметровий папір у системі координат відносно їхніх відповідних концентрацій (0,000, 0,015, 0,075, 0,150 МОД/мл) та побудуйте калібрувальну криву стандарту (значення абсорбції на осі у, концентрації на осі х).

Зчитайте результати з цієї стандартної кривої, використовуючи (середні) значення абсорбції кожного зразка пацієнта.

Для розрахунку стандартної кривої слід використовувати математичну функцію "точка до точки".

8.3. Типова стандартна крива



8.4. Інтерпретація результатів

згідно з: РКІ 1999

< 0,01 МОД/мл	Немає захисного рівня антитіл! Рекомендується негайний повний курс базової імунізації!
0,01 - 0,09 МОД/мл	Немає надійного захисту! Рекомендується негайна бустерна ін'єкція.
0,1 – 1,0 МОД/мл	Надійний захист!
> 1,0 МОД/мл	Надійний довготривалий захист: Приблизно через 10 років після останньої ревакцинації та рекомендується ревакцинація. Рекомендується перевірити базову імунізацію або ревакцинацію через 4-6 тижнів після імунізацію та записувати дані у свідоцтві про вакцинацію.

Діагноз інфекційного захворювання не слід встановлювати на основі результатів одного тесту. Точний діагноз повинен 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 (E)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	24	1.347	3.85
#2	24	1.843	3.86
#3	24	0,527	3.02

Між аналізами	н	Середнє значення (МОД/мл)	Коефіцієнт варіації (%)
#1	12	0,00783	12,95
#2	12	0,03447	6,99
#3	12	0,03539	6.86

9.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність негативного результату аналізу за відсутності специфічного аналіту. Вона становить 100% (95% довірчий інтервал: 89,42% - 100%).

9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу за наявності специфічного аналіту. Вона становить 100% (95% довірчий інтервал: 95,44% - 100%).

9.4. Аналітична чутливість

Аналітична чутливість (згідно з CLSI EP17-A) визначається як видима концентрація аналіту, яку можна відрізнити від нульового калібратора. Вона становить 0,00092 МОД/мл.

9.5. 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.

9.6. Перехресна реактивність

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

9.7. Діапазон вимірювання

Діапазон вимірювання становить від 0,00092 МОД/мл до 0,15 МОД/мл.

10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

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


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 мікропланшети 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 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 компаній з управління відходами, які нададуть вам поради щодо утилізації небезпечних відходів.

Інформацію про пакувальні матеріали див. у розділі ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ.


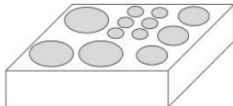




12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

REF	CORG0090	IgG токсину коринебактерій дифтерії	(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 DIL</p> <p>CONJ CAL</p>		<p>МТП</p>
 <p>ПНД 2</p>	 <p>ПП 5</p>	 <p>ПЕТ / АЛЮМІНІЙ / ПЕНД 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

IgG токсину коринебактерій дифтерії

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)	Стандарт А	Стандарт Б	Стандарт С	Стандарт D	Зразок (1+100 розведений)
Стандарт А	-	100 мкл	-	-	-	-
Стандарт Б	-	-	100 мкл	-	-	-
Стандарт С	-	-	-	100 мкл	-	-
Стандарт D	-	-	-	-	100 мкл	-
Зразок (1+100 розведений)	-	-	-	-	-	100 мкл
Накрийте лунки фольгою, що постачається в комплекті 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	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	100 мкл
Інкубувати рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) у темряві						
СОЛН СТОП	100 мкл	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

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