

НоваЛіза[®]

**Дифтерійна паличка токсин 5S IgG плюс
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

PCORG009 (96 визначень)

УКРАЇНСЬКА

1. ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Токсин *Corynebacterium diphtheriae* 5S IgG плюс ІФА призначений для кількісного визначення антитіл класу IgG проти токсину *Corynebacterium diphtheriae* в сироватці або плазмі людини (цитрат, гепарин).

2. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Кількісне імуноферментне визначення специфічних антитіл базується на методі 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 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, 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 густина при 450/620 нм зчитують за допомогою пристрою для зчитування ІФА мікропланшетів.

3. МАТЕРІАЛИ

3.1. Реагенти в наборі

- **мікропланшет:** 12 стріпів із 8 лунками, покритих антигенами токсину (анатоксину) *Corynebacterium diphtheriae*; в алюмінієвій фользі, що закривається.
 - **DIL:** 1 флакон, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для розведення зразка; рН 7,2 ± 0,2; пофарбовані в жовтий колір; готовий використовувати; білий ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) СМІТ/МІТ (3:1).
 - **SOLN STOP:** 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), 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 міченого пероксидазою антитіла до IgG людини у фосфатному буфері (10 мМ); пофарбовані в синій колір; 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.
 - **КОНТРОЛЬ:** 1 флакон по 2 мл; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; помаранчевий ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.
 - **Стандарти:** 5 флаконів, кожен по 2 мл стандарту; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; ≤ 0,02% (об./об.) МІТ.

Стандарт А:	0,000	МОд/мл; синій ковпачок
Стандарт В:	0,015	МОд/мл; зелений ковпачок
Стандарт С:	0,075	МОд/мл; жовтий ковпачок
Стандарт D:	0,150	МОд/мл; червоний ковпачок
Стандарт Е:	1000	МОд/мл; білий ковпачок
- Стандарти відкалібровані відповідно до "1^{вул}" Міжнародний стандарт дифтерійного антитоксину IgG людини» (ВООЗ, 2012).

Заяви про небезпеку та застереження див 11.1.

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 °С
- 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 набір при 2...8 °С. Розкриті реагенти стабільні до терміну придатності, зазначеного на етикетці, за умови зберігання при 2...8 °С.

5. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

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

5.1. Мікропланшет

Стріпи, що відриваються, покриті антигенами токсину (анатоксину) *Corynebacterium diphtheriae*. Одразу після видалення стріпів решту стріпів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із осушувачем, що постачається, і зберігати при 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 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|TMB стає синім, можливо, він забруднений і його слід викинути.

6. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Для цього аналізу використовуйте зразки сироватки або плазми крові людини (цитрат, гепарин). Якщо аналіз проводиться протягом 5 діб 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+100DIL. Роздайте 10 мкл зразка та 1 мл DIL 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|1x від 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефекту промивання. Зверніть увагу на розділ 11. 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 вимірених 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 референтної 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:** поглинання < 0,100
- **Стандарт А:** Поглинання < 0,200
- **Стандарт В:** Поглинання > 0,050
- **Стандарт С:** Поглинання > Стандарт В
- **Стандарт D:** Поглинання > Стандарт С
- **Стандарт Е:** Поглинання > 0,800
- **КОНТРОЛЬ:** Результат МОд/мл у межах діапазону, зазначеного на етикетці.

Стандарт А < Стандарт В < Стандарт С < Стандарт D < Стандарт Е

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

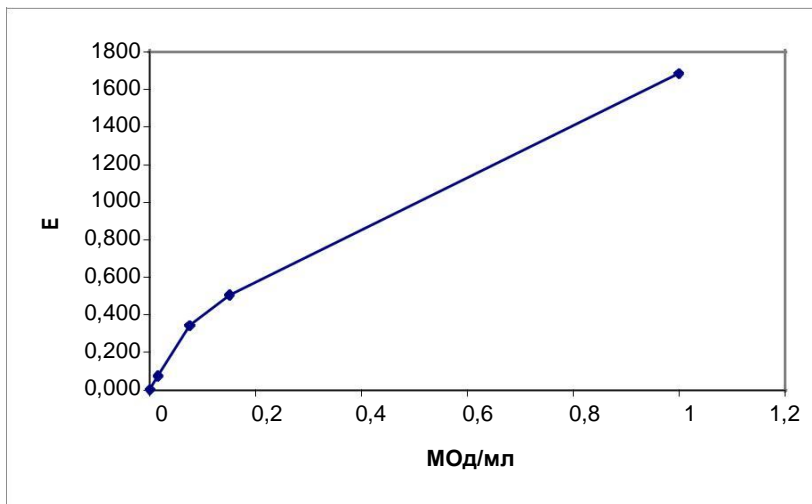
8.2. Підрахунок результатів

Щоб отримати кількісні результати в МОд/мл, нанесіть (середнє) значення поглинання 5 стандартів А, В, С, D і Е на (лінійний/лінійний) міліметровий папір у системі координат проти їхніх відповідних концентрацій (0,000, 0,015, 0,075, 0,150, 1,000 МОд/мл) і намалюйте стандартну криву (значення поглинання на осі y, концентрації на осі x).

Прочитайте результати цієї стандартної кривої, використовуючи (середнє) значення поглинання кожного зразка пацієнта та контролю.

Для розрахунку стандартної кривої слід використовувати математичну функцію Point to Point.

8.3. Типова стандартна крива



8.4. Інтерпретація результатів

за: PKI 1999р

< 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 довгостроковий захист: Приблизно через 10 років після останньої ревакцинації рекомендується контроль і бустер-ін'єкція. Рекомендується перевірити основну імунізацію або ревакцинацію через 4-6 тижнів після імунізації та записати дані в свідоцтво про вакцинацію.

Діагноз інфекційного захворювання не можна встановлювати на основі одного результату дослідження. Точний діагноз повинен брати до уваги клінічний анамнез, симптоматику, а також серологічні дані.

У пацієнтів з ослабленим імунітетом і новонароджених серологічні дані мають лише обмежене значення.

9. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

9.1. Точність

В аналізі	п	Середнє значення (E)	CV (%)
#1	24	1,347	3,85
#2	24	1,843	3,86
#3	24	0,527	3.02

Між аналізами	п	Середнє значення (МОд/мл)	CV (%)
#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 конкретного аналіту. Це 100% (95% довірчий інтервал: 89,42% - 100%).

9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу в присутності конкретного аналіту. Це 100% (95% довірчий інтервал: 95,44% - 100%).

9.4. Аналітична чутливість

Аналітична чутливість (відповідно до CLSI EP17-A) визначається як видима концентрація аналіту, яку можна відрізнити від нульового калібратора. Це 0,00235 МОд/мл.

9.5. 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 білірубину.

9.6. Перехресна реактивність

Дослідження панелі зразків із активністю антитіл до потенційно перехресних параметрів не виявило доказів хибнопозитивних результатів через перехресні реакції.

9.7. Діапазон вимірювання

Діапазон вимірювання становить 0,00235 МОд/мл – 1,00 МОд/мл.

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 СМІТ/МІТ (3:1) або МІТ (див.3.1).
Тому застосовуються наступні положення про безпеку та запобіжні заходи.

	УВАГА	H317 P261 P280	Може викликати шкірну алергічну реакцію. Уникайте вдихання спрею. 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 безпеку та запобіжні заходи.

	УВАГА	H315 H319 P280	Викликає подразнення шкіри. Викликає серйозне подразнення очей. 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 контактні 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.


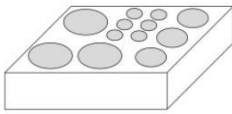




12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

REF PCORG009 Дифтерійна паличка токсин 5S IgG плюс (96 визначень)












СКОРОЧЕННЯ

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

ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ

 PAP 21	 PAP 21	 PAP 22																
<table border="1"> <tr> <td>SOLN</td> <td>СТОП</td> <td>WASH</td> <td>BUF</td> <td>20x</td> <td>SUB</td> <td>TMB</td> <td>DIL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">CONJ</td> <td>CAL</td> <td colspan="2">CONTROL</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table>		SOLN	СТОП	WASH	BUF	20x	SUB	TMB	DIL	CONJ		CAL	CONTROL					MTP
SOLN	СТОП	WASH	BUF	20x	SUB	TMB	DIL											
CONJ		CAL	CONTROL															
 HDPE 2	 PP 5	 PET / ALU / LDPE 90																

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

Дифтерійна паличка токсин 5S IgG плюс

Підготовка до аналізу

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)	Стд А	Стд В	Стд С	Стд D	Стд Е	КОНТРОЛЬ	Зразок (розбавлений 1+100)
Стандарт А	-	100 мкл	-	-	-	-	-	-
Стандарт Б	-	-	100 мкл	-	-	-	-	-
Стандарт С	-	-	-	100 мкл	-	-	-	-
Стандарт D	-	-	-	-	100 мкл	-	-	-
Стандарт Е	-	-	-	-	-	100 мкл	-	-
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	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	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубуйте рівно 15 хв при кімнатній температурі (20...25 °C) у темряві								
SOLN STOP	100 мкл	100 мкл	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

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Німеччина

Тел.: +49 6074 23698-0

Факс: +49 6074 23698-900

Електрон

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

сайт: Clinical.goldstandarddiagnostics.com