

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG K UREAPLASMA UREALYTICUM

EIA-4623, Ureaplasma urealyticum IgG ELISA

Кат. № : EIA-4623

Методика от 07-2012

Количество : 96

Версия 9.0

Производитель: DRG (Германия)



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Для использования только в *in vitro* диагностике

1. ВВЕДЕНИЕ

Настоящий набор содержит компоненты для **качественного и полуколичественного** определения в сыворотке антител класса IgG к *Ureaplasma urealyticum*.

Настоящий анализ предназначен только для диагностического использования *in vitro*.

3. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

- Данный набор предназначен только для использования в диагностике *in vitro*.
- Все реагенты этого набора, которые содержат человеческую сыворотку или плазму, тестировались и подтверждены FDA методиками как отрицательные к ВИЧ 1/2б поверхностному антигену гепатита В и вирусу гепатита С. Однако, во время использования и уничтожения все реагенты следует рассматривать как потенциально биологически опасные.
- Контроли и стандарты в культурах клеток оказались неинфекционными.
- Избегайте контакта со стоп раствором, содержащим 0.5 моль/л H₂SO₄. Он может вызывать раздражение кожи и ожоги.
- Никогда не раскапывайте рот и избегайте контакта реагентов и образцов с кожей и слизистыми оболочками.
- Не курите, не принимайте пищу, не пейте и не наносите косметику на территории, где обрабатываются образцы или реагенты набора.
- Надевайте одноразовые перчатки из латекса при обработке образцов и реагентов. Микробиологическое заражение реагентов или образцов может дать ошибочные результаты.
- Обращение должно соответствовать процедурам, указанным в соответствующих государственных руководствах или правилах по биологической безопасности.
- Не используйте реагенты после даты истечения срока годности, которая указана на этикетках набора.
- Согласно протокола анализа необходимо соблюдать рабочие объемы реагентов.
- Использование калиброванных пипеток и считывающих устройств пластины микротитратора. Оптимальные результаты анализа можно получить только при использовании откалиброванных дозаторов и микротитровальных планшеточных считывателей.
- Не смешивайте и не используйте компоненты наборов с различными номерами партий. Рекомендуется не заменять лунки различных планшетов, даже одной и той же партии. Возможно, что наборы поставлялись и хранились в различных условиях, и связывающие качества планшетов могут в некоторой степени отличаться.
- Исходя из соответствующих государственных руководств или правил по биологической безопасности, химические вещества, и подготовленные или использованные реагенты должны рассматриваться как опасные отходы.

За информацией относительно опасных веществ, входящих в набор, просьба обращаться к Спецификациям Безопасности Материала. Спецификации Безопасности Материала предоставляются по запросу непосредственно от компании DRG Instruments GmbH.

4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

4.1 Содержимое набора

1. **Микротитровальные лунки:** лунки покрытые антигеном *Mycoplasma pneumoniae* (12x8 лунок).
2. **Раствор для разведения образцов:** Желтого цвета: 1 флакон (100 мл), pH 7,2 ± 0,2.

3. **Положительный контроль:** Желтого цвета. Красный колпачок: 1 флакон (1 мл).
4. **Отрицательный контроль:** Желтого цвета. Желтый колпачок: 1 флакон (2 мл).
5. **Cut-off контроль** (готов к использованию): Желтого цвета. Черный колпачок: 1 флакон (2 мл).
6. **Ферментный конъюгат:** Красного цвета: 1 флакон (20 мл).
7. **TMB – раствор субстрата** (готов к использованию): 1 флакон (14 мл).
8. **Стоп-раствор:** 0,5 моль/л H₂SO₄: 1 флакон (14 мл).
9. **Промывочный раствор** (20x концентрат для 600 мл, pH 7,2 +/- 0,2): 1 флакон (30 мл). См. «Приготовление реагентов».

4.1.1 Необходимые, но не поставляемые материалы

- Микропланшетный ридер с фильтром 450/620 +/-10 нм.
- Калибровочные микропипетки.
- Инкубатор 37°C.
- Ручное или автоматическое оборудование для промывки лунок.
- Вихревой миксер.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Таймер.
- Абсорбирующая бумага.

4.2 Хранение и стабильность набора

При температуре хранения от 2 до 8°C не вскрытые реагенты сохраняют активность до истечения срока годности. После истечения этой даты реагенты использовать не рекомендуется.

Вскрытые реагенты должны храниться при 2 – 8°C. Микропланшет должен храниться при 2 – 8°C. После вскрытия фольгированного пакета при хранении пакет необходимо держать плотно закрытым. Иммуноактивность лунок сохраняется приблизительно в течение 2 месяцев при хранении во вскрытом, но плотно закрытом пакете с влагопоглотителем.

4.3 Подготовка реагентов

Перед использованием необходимо довести все реагенты и необходимое количество стрипов до комнатной температуры.

Промывочный раствор

Развести промывочный раствор **1+19** (напр. 10 мл + 190 мл) свежей, очищенной от бактерий редистиллированной водой. Потребление: ~**5 мл** на определение.

Кристаллы в растворе исчезают при нагревании до 37°C на водяной бане.

Стабильность после разведения: 4 недели при 2 ± 8 °C

4.4 Утилизация набора

Утилизацию набора необходимо осуществлять в соответствии с официальными государственными правилами. Вся необходимая информация о данном наборе предоставлена в Паспорте безопасности (см. Раздел 13 в оригинале инструкции).

4.5 Поврежденные наборы

В случае серьезного повреждения набора или его компонентов, необходимо проинформировать об этом компанию DRG в письменной форме не позднее 1 недели после получения набора. Не рекомендуется тестировать поврежденные наборы.

5. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

В данном анализе может использоваться сыворотка или плазма.

Не использовать гемолитические, желтушные или липемические образцы.

5.1 Забор образцов

Сыворотка:

Забрать кровь стандартным методом венепункции, дать свернуться и отделить сыворотку центрифугированием при комнатной температуре.

Плазма:

Цельная кровь должна быть собрана в центрифужные пробирки, содержащие антикоагулянт. Центрифугировать немедленно после забора.

5.2 Хранение образцов

Образцы должны быть закрытыми, их необходимо хранить до 24 часов при температуре 2-8°C до начала анализа и должны быть заморожены только раз до -20°C для хранения в течении более длительного периода. Размороженные образцы необходимо несколько раз перевернуть перед анализом.

5.3 Разведение образцов

Развести каждый образец пациента **1+100** раствором для разведения образцов, напр., 10 мкл образца + 1 мл раствора для

разведения (хорошо смешать, инкубировать в течение 15 минут, хорошо смешать).

Внимание: Контроли готовы к использованию и их не надо разводить!

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

6.1 Общие примечания

- Перед использованием все реагенты довести до комнатной температуры. Реагенты необходимо смешать без образования пены.
- Рекомендуется проводить процедуру непрерывно.
- Избегать контаминации реагентов, пипеток, и лунок/пробирок. Используйте новые одноразовые пластиковые наконечники для каждого реагента или образца.
- Абсорбция – функция инкубационного времени и температуры. Перед началом проведения процедуры рекомендуется подготовить все реагенты, извлечь крышки, установить лунки в держатель и т.д. Это обеспечит непрерывное проведение каждого этапа пипетирования.
- Как правило, ферментная реакция линейно пропорциональна времени и температуре.

6.2 Процедура анализа

Перед проведением анализа необходимо разбавить промывочный раствор, **приготовить образцы пациентов как описано в п. 5.3**. Перед пипетированием хорошо перемешайте и составьте **схему распределения и идентификации** с помощью формы вложенной в набор.

1. Отобрать требуемое количество микротитровальных стрипов или лунок и поместить их в держатель.
Разместите по меньшей мере:
1 лунка (напр., A1) для бланка субстрата
1 лунка (напр., B1) для отрицательного контроля
2 лунки (напр., C1+D1) для Cut-off контроля и
1 лунка (напр., E1) для положительного контроля.
На усмотрение пользователя можно ставить образцы и контроли в дублях.
2. Раскапать:
100 мкл отрицательного контроля в лунку B1
100 мкл Cut-off контроля в лунки C1 и D1
100 мкл положительного контроля в лунку E1 и
100 мкл **каждого разведенного** образца пациента с **новыми одноразовыми наконечниками** в оставшиеся лунки согласно схеме. Оставьте лунку A1 для бланка субстрата!
3. Накрыть лунки пленкой поставляемой в наборе. Инкубировать: **1 час при 37 °C**.
4. Резко встряхните содержимое лунок. Промойте их **5 раз 300 мкл/лунку** рабочего промывочного раствора. В конце осторожно удалить остатки жидкости выстучав стрипы на салфетку перед следующим этапом!
Примечание:
Промывка очень важна! Плохая промывка может привести к низкой точности и завышенным значениям абсорбции.
5. Раскапать **100 мкл** ферментного конъюгата во все лунки, **кроме A1** и накрыть их пленкой.
6. Накрыть лунки пленкой. Инкубировать: **30 минут при комнатной температуре (20 - 25 °C)**. Не подвергать воздействию прямого солнечного света!
7. Повторить процедуру промывки как описано в этапе 4.
Примечание: *осторожно удалить остатки жидкости, выстучав стрипы на салфетку!*
8. Раскапать **100 мкл** раствора субстрата **во все** лунки
9. Накрыть и инкубировать: **ровно 15 минут при комнатной температуре (20 ÷ 25 °C) в темноте**.
10. Остановить ферментную реакцию путем внесения **100 мкл** стоп-раствора **в каждую** лунку. Любое голубое окрашивание проявившееся во время инкубации переходит в желтое.
Примечание: *высоко-положительные образцы пациентов могут иметь темный осадок хромогена!*
11. Считать оптическую плотность при **450/620 нм** с помощью микротитрационного планшетного ридера в течение **30 минут** после внесения стоп-раствора.

6.3 Измерение

Настроить микропланшетный ридер для ELISA на нуль используя **бланк субстрата в лунке A1**.

Если по техническим причинам ELISA ридер не может быть настроен на нуль используя бланк субстрат в лунке A1, вычитайте значение абсорбции лунки A1 из всех остальных значений абсорбции. Измерить абсорбцию во всех лунках при 450 нм и записать значения абсорбции для каждого контроля и образца пациента в схему.

Двойная длина волны – рекомендуется считывать на 620 нм как референтной длине волны. Где применимо рассчитать среднее значение абсорбции всех дублей.

7. РЕЗУЛЬТАТЫ

7.1 Надежность процесса анализа

Постановка анализа может считаться **действительной** при соблюдении следующих условий:

- **Бланк субстрата в A1** ⇒ значение абсорбции менее **0.100**.
- **Отриц. контроль в B1**: ⇒ значение абсорбции менее **0.200**.
- **Cut-off контроль в C1/D1**: ⇒ значение абсорбции между **0.350 - 0.850**.
- **Полож. контроль в E1**: ⇒ значение абсорбции более **0.650 - 3.000**

7.2 Вычисление

Значение средней абсорбции Cut-off контроля (CO). Вычислите значение средней абсорбции двух (2) определенных cut-off контролей (напр: в C1/D1).

Пример: $(0,44 + 0,46) : 2 = 0,50 = CO$

7.3 Интерпретация

Средние значения абсорбции образцов пациента более чем на **10 % выше CO**
⇒ **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗ-Т**

(Средние) значения абсорбции пациентов **от 10 % выше до 10 % ниже CO**
⇒ **серая зона ⇒ повторить анализ**

2 - 4 недели спустя – на новых пробах пациентов

результат второго анализа опять в «серой зоне»
⇒ **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗ-Т**

средние значения абсорбции пациента более чем **10% ниже CO**
⇒ **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗ-Т**

7.3.1 Результаты в DRG единицах [DU]

среднее значение абсорбции пациента x 10

_____ = [DRG UNITS = DU]
CO

1.580 x 10

Пример: _____ = 35 DU
0.45

Интерпретация результатов

Значение Cut-off: 10 DU
Серая зона: 9 – 11 DU
Отрицательный: < 9 DU
Положительный: > 11 DU

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольные образцы в соответствии с нормами федеральных и государственных прав. Использование контрольных образцов обеспечивает достоверность результатов анализа. Используйте контроли на нормальном и патологическом уровнях.

Так же рекомендуется использовать национальные или международные программы оценки качества для обеспечения точных результатов анализа.

Используйте соответствующие статистические методы для анализа контрольных значений и отклонений. Если результаты анализа не соответствуют установленным допустимым диапазонам контрольных материалов, результаты пациента необходимо рассматривать как недействительные. В этом случае, проверьте следующие технические данные: приборы для пипетирования, фотометр, срок годности реагентов, условия хранения и инкубации, аспирационные и промывочные методы.

В случае проверки всех выше перечисленных пунктов вы не обнаружили никаких неисправностей, обратитесь к вашему дистрибьютору или же непосредственно в компанию DRG.

9. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 Диагностическая специфичность

Составила 100 %.

9.2 Диагностическая чувствительность

Составила 100 %.

10. ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Бактериальное загрязнение или повторные циклы замораживания-оттаивания образца могут повлиять на значения плотности.

11. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

11.1 Достоверность результатов

Тест должен проводиться точно с инструкцией производителя. Также пользователь должен следовать национальным стандартам и законам. Это особенно относится к использованию контролей. Очень важно всегда включать в анализ достаточное количество контролей для оценки достоверности и точности анализа.

Тестовые результаты достоверные, только если контроли попадают в указанные границы и если все другие параметры соответствуют спецификации.

11.2 Терапевтические заключения

Терапевтическое заключение никогда не должно основываться на результатах лабораторных исследований. Оно должно учитывать полностью всю клиническую картину пациента.

Тестовые результаты не должны быть единственным фактором, на основе которого ставится терапевтическое заключение.

11.3 Надежность

Любые изменения набора и/или смешивания компонентов разных лотов могут отрицательно влиять на результаты теста.

Такие модификации не могут быть причиной для замены набора.

Любые повреждения при транспортировке набора не являются под ответственностью производителя.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com