

НАБІР ІФА
ДЛЯ ЯКІСНОГО ВИЯВЛЕННЯ
СПЕЦИФІЧНИХ IgG/M АНТИТІЛ ПРОТИ
BORRELIA BURGDORFERI

4006, Aeskublot Borrelia-G/M

Каталог. №: 4006

Методика від 28-02-2013

Кількість : 24

Версія 005

Виробник : AESKU. Diagnostics,
(Німеччина)



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

1 Призначення

AESKUBLOT Borrelia-G/M – це чутливий мембранний імуноферментний аналіз для якісного виявлення специфічних IgG/M антитіл проти *Borrelia burgdorferi* в сироватці людини. Антигени розміщені паралельними лініями в точно визначених позиціях на нітроцелюлозній мембрані.

Аналіз є інструментом для підтвердження позитивних результатів ІФА.

2 Клінічне застосування і принцип аналізу (Див. оригінал інструкції).

Принцип тесту

Антигени наносяться лініями на нітроцелюлозну мембрану. Мембрана заблокована, щоб запобігти неспецифічним реакціям. Мембранні смужки зі специфічними антигенами в точно визначених позиціях інкубують в зразках сироватки/плазми розведеними 1:101. Антигена пацієнта, якщо вони присутні в зразку, зв'язуються з антигеном. Незв'язана фракція вимивається на наступній стадії. Потім анти-людські імуноглобуліни, кон'юговані з пероксидазою хрому (кон'югат) інкубують і вступають в реакцію з комплексом антиген-антитіло зразків. Незв'язаний кон'югат вимивається в наступному кроці. Після додавання ТМВ-субстрату він перетворюється за допомогою ферментативної реакції на блакитний осад. Реакцію зупиняють за допомогою дистильованої води.

3 Комплект поставки

МАЮТЬ БУТИ ВІДНОВЛЕНІ				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Промивний буфер та Буфер для зразків (5x)	2 x 100 мл	Білий	Безколірний	5x концентрат для приготування 1 л
ГОТОВІ ДО ВИКОРИСТАННЯ				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Кон'югат, IgG (Кат. № 4006)	1 x 10 мл	Синій	Фіолетовий	Містить: Анти-імуноглобулін G (IgG) людини, кон'югований з пероксидазою хрому
Кон'югат, IgM (Кат. № 4007)	1 x 10 мл	Зелений	Зелений	Містить: Анти-імуноглобулін M (IgM) людини, кон'югований з пероксидазою хрому
Субстрат ТМВ	1 x 10 мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований ТМВ/H ₂ O ₂
Мембранні смужки	24 смужки	Кольорове кодування: зелений	N/A	Покриті антигени див. призначення використання
Інкубаційний лоток	3 шт.	N/A	N/A	N/A
пінцет, референтний шаблон, листок результатів	по 1 шт. кожного	N/A	N/A	N/A

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Хитна платформа, циліндр 1000 мл, піпетка або циліндр на 10 мл, піпетки прецизійні (10, 1000 мкл), абсорбуючий або фільтрувальний папір. Наші тести призначені для використання з очищеною водою відповідно до визначення Фармакопеї США (USP 26 – NF 21) та Європейської Фармакопеї (Eur.Ph. 4-е вид).

4 Зберігання та термін придатності

Зберігати всі реагенти і мембранні смужки при температурі 2-8 °C/35-46 °F, в оригінальній упаковці. Готові, відновлені розчини стабільні протягом 4 тижнів при температурі 2-8 °C/35-46 °F, як мінімум. Реагенти і мембранні смужки повинні використовуватися тільки в межах терміну придатності, зазначеного на кожному компоненті. Уникайте інтенсивного впливу світла на ТМВ розчин.

5 Запобіжні заходи у використанні і Загальні відомості

5.1 Небезпека для здоров'я

Цей продукт призначений тільки ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO. Таким чином, тільки персонал, навчений і спеціально інформований щодо методів діагностики в пробірці, може проводити аналіз. Хоча цей продукт не вважається особливо токсичним або небезпечним в умовах нормального використання, притримуйтеся наступних заходів для максимальної безпеки:

Рекомендації та заходи безпеки

Цей комплект містить потенційно небезпечні компоненти. Хоча реагенти не класифіковані як подразник для очей і шкіри, ми рекомендуємо уникнути контакту з очима та шкірою і носити одноразові рукавички.

Промивний буфер, кон'югат і субстрат містять катон (1% об/об) як консервант. Не ковтати, не допускати контакту зі шкірою або слизовими оболонками.

Не паліть, не їжте і не пийте під час роботи з набором. Не піпетувати ротом.

Поводитись зі зразками пацієнтів як з потенційним джерелом інфекційних захворювань і відповідно до національних вимог.

5.2 Загальні зауваження щодо використання

Щоб диференціювати між різними Aeskublot доступними тестами, застосовується колірне кодування над референсною лінією смужок:

Колірне кодування	AESKUBLOT
жовтий	АНА-12 Pro
помаранчевий	АНА-17 Pro
синій	Міозит Pro
коричневий	Печінка Pro
фіолетовий	Васкуліт Pro
чорний	Шлунковий Pro
зелений	Borrelia-G і Borrelia-M

У разі, якщо інформація про продукт, в тому числі маркування, є спотвореною або неправильною, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тест-набору.

Блокуючий Реагент та промивний буфер можуть бути взаємозамінними між лотами і тестовими наборами. Всі інші компоненти є специфічними для кожного тест-набору і не є взаємозамінними. Не міняйте компоненти між реагентами діагностичних тестів аутоімунних хвороб і Borrelia діагностичними тестами!

При роботі з кон'югатом не використовувати посуд з полістиролу. Привести всі компоненти до кімнатної температури (20-32 °C/68-89.6 °F) перед використанням, добре перемішати і дотримуватись рекомендованої інкубаційної схеми для оптимального виконання тесту.

Ніколи не піддавайте компоненти більш високій температурі, ніж 37 °C/98.6 °F.

Завжди проводити піпетування розчину субстрату тільки з новими наконечниками. Захищати цей реагент від світла. Ніколи не піпетувати кон'югат з наконечниками, які використовувались з іншими реагентами до цього.

Інтенсивність кольору полоски не обов'язково корелює з титрами антитіл, отриманих іншими референсними методологіями.

Зразки від очевидно нормальних донорів крові можуть містити аутоантитіла.

Якщо зразок пацієнта містить підвищені рівні імунних комплексів та інших агрегатів імуноглобулінів, помилкові позитивні результати від неспецифічного зв'язування не можуть бути виключені.

Певний клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах тільки проведеного тесту, але має бути зроблений лікарем після оцінки всіх клінічних та лабораторних досліджень.

Діагноз повинен бути перевірений з використанням різних методів діагностики.

6 Відбір проб, Використання та Зберігання

Використовуйте переважно зібрані нещодавно зразки сироватки. Забір крові повинен проводитись відповідно до державних вимог. Не використовуйте іктеричні, ліпемічні, гемолізовані або бактеріально забруднені зразки. Сироватка з частинками повинна бути очищена центрифугуванням з низькою швидкістю (<1000 x g). Зразки крові повинні бути зібрані в чисті, сухі і порожні пробірки.

Після сепарації, зразки сироватки слід використовувати на протязі перших 8 годин, зберігати щільно закритими при температурі 2-8 °C/35-46 °F до 48 годин або замороженими при -20 °C/-4 °F для більш тривалих періодів. Уникайте повторного відтавання і заморозки. Не використовуйте інактивовані теплом зразки.

7 Процедура аналізу

7.1 Підготовчі заходи перед початком роботи

Розвести концентрований промивний буфер 1 + 4 з дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 80 мл).

7.2 Схема Піпетування

Важливі зауваження:

Точно дотримуйтесь даного протоколу. Переконайтеся, що два згаданих у протоколі компоненти додаються в лоток в кроці 6, 9. Не дозволяйте смужці висохнути протягом інкубації.

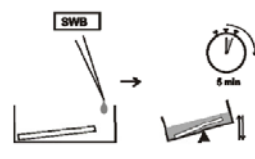
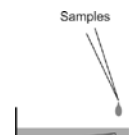
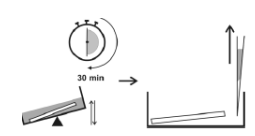
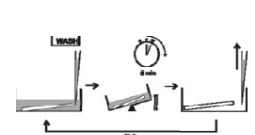
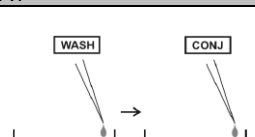
Не торкайтеся пальцями смужки, використовуйте пінцет.

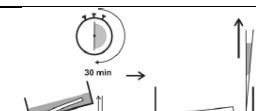
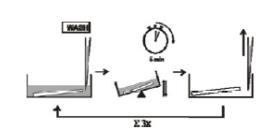
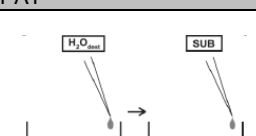
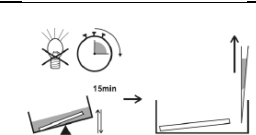
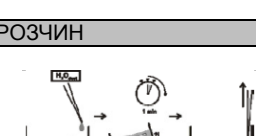
Видаліть розбавлені зразки повністю після інкубації смужки, щоб уникнути перенесення забруднення.

Постійно стусуйте смужку під час інкубації.

Розмістіть буфер для зразків, кон'югат і субстрат разом з промивним буфером на одній стороні інкубаційного лотка. Не допускайте перетікання на смужку.

7.3 Проведення тестування

Крок	Опис
1.	Переконайтеся, що підготовка відповідно до пункту 7.1 вище була проведена перед початком тесту.
2.	 <p>Покладіть смужку в правильному напрямку в інкубаційний лоток (референсна лінія і колірне кодування вгорі). Змочіть смужку з 1 мл промивного буфера і інкубуйте протягом 5 хвилин при перемішуванні.</p>
КОНТРОЛІ І ЗРАЗКИ	
3.	 <p>Внести 10 мкл зразка сироватки/плазми в спеціальні інкубаційні лотки з буфером для зразків.</p>
4.	 <p>Інкубувати протягом 45 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F при перемішуванні. Після цього видалити зразок повністю.</p>
5.	 <p>Промити 3 рази по 5 хвилин з 1.5 мл промивного буфера перемішуванням. Видалити промивний буфер після кожного кроку промивання.</p>
КОН'ЮГАТ	
6.	 <p>Внести 700 мкл промивного буфера і 300 мкл кон'югату в кожен інкубаційний лоток зі смужкою.</p>
7.	Інкубувати протягом 45 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F при перемішуванні. Видалити

	 <p>кон'югат.</p>
8.	 <p>Промити 3 рази по 5 хвилин з 1.5 мл промивного буфера перемішуванням. Видалити промивний буфер після кожного кроку промивання.</p>
СУБСТРАТ	
9.	 <p>Внести 700 мкл dH₂O і 300 мкл субстрату в кожен інкубаційний лоток зі смужкою.</p>
10.	 <p>Інкубувати протягом 15 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F при перемішуванні захищений від інтенсивного світла. Видалити субстрат.</p>
СТОП РОЗЧИН	
11.	 <p>Внести 2 мл dH₂O в кожен інкубаційний лоток зі смужкою. Витримайте 1 хвилину при перемішуванні. Видалити dH₂O. Повторити цей крок ще один раз.</p>
12.	Видалити смужку інкубаційного лотка. Висушити смужку між фільтрувальним папером.
13.	Провести аналіз результатів протягом 24 годин.

8 Якісна Інтерпретація

8.1 Керівництво по проведенню аналізу

На кожній тестовій смужці Aeskublot Borrelia-G/M є чотири контрольних смуги, нанесені одна під одною.

- 1) Контроль функціонування під номером смуги (сильно позитивна реакція з кожним зразком сироватки)
- 2) Контролі кон'югату IgG та IgM (сильно позитивна реакція з відповідним кон'югатом. Залежно від використовуваної сироватки інший контроль кон'югату може розвинути слабкий неспецифічний колір).
- 3) Cut-off контроль, інтенсивність якого використовується для оцінки результатів діагностичних смуг.

Результати випробувань можуть вважатися дійсними, якщо:

- Функціональний контроль є видимим
- Контроль Cut-off є видимим
- І відповідний контроль кон'югату стає видимим

Розмістіть висухнену смужку на аркуші результатів в одну лінію з референсною. Поєднайте референсний шаблон з референсною лінією смужки. Інтерпретуйте результати тільки по відношенню до контролю Cut-off кожної смужки.

Інтерпретувати результати Aeskublot Borrelia-G як показано нижче:

Інтерпретація	IgG
Негативний	1 смужка, крім VIsE > Cut-off
Сумнівний	VIsE або 1 смужка + p41 ≥ Cut-off
Позитивний	2 смужки, крім p41 ≥ Cut-off

Інтерпретувати результати Aeskublot Borrelia-M як показано нижче:

Інтерпретація	IgM
Негативний	Ні одна смужка, крім p41 > Cut-off
Сумнівний	1 смужка крім OspC або p41 або p18 ≥ Cut-off
Позитивний	OspC або p18 або 2 інші смужки ≥ Cut-off

Результати можуть бути записані на аркуші результатів.

У випадку, що значення контролів не відповідають критеріям, тест є недійсним і повинен бути повторений. Ми рекомендуємо повторне тестування зразків, які є двозначними.

Наступні технічні питання повинні також бути перевірені: дата закінчення терміну придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, обладнання, умови інкубації і методи промивки.

Якщо зразки, які тестуються, показують значення, що відхиляються, або, якщо критерії перевірки не виконуються через фактори поза

межами відповідальності оператора, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тестового набору.

Медичні лабораторії можуть виконувати контроль якості в лабораторії за допомогою своїх власних контролів та/або внутрішнього пулу сироваток, як зазначено в національних правилах.

9 Технічні дані

Матеріал зразка:	сироватка або плазма
Об'єм зразка:	10 мкл зразка
Загальний час інкубації:	142 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F
Зберігання:	при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони
Кількість визначень:	24 тести

10 Робочі характеристики

10.1 Відносна чутливість та специфічність

80 сироваток від хворих з підозрою на Лайм Бореліозу були досліджені в порівняльному аналізі з використанням **AESKUBLOT Borrelia G/M** та інших комерційних імуноаналізів.

n = 80		other commercial - line immuno assay	
		positive	negative
AESKUBLOT Borrelia-G/M	positive	52	7
	negative	2	19

Позитивна узгодженість (відносна чутливість) склала 96.2% між аналізами.

Крім того, суперечливі сироватки були досліджені в іншому блот-тесті. Результати відповідали **AESKUBLOT Borrelia-G/M**.

Крім того, в порівняльному дослідженні 32 сироваток від хворих з підозрою на недавню інфекцію *Borrelia* були аналізовані з **AESKUBLOT Borrelia-M** і іншим комерційним імуноаналізом.

n = 32		commercial - line immuno assay	
		positive	negative
AESKUBLOT Borrelia- M	positive	9	3
	negative	1	19

Позитивна узгодженість (відносна чутливість) склала 90% між аналізами.

Крім того, суперечливі сироватки були досліджені в іншому блот-тесті. Дві з трьох сироваток були знайдені позитивними. Була також підтверджена негативна сироватка.

Для того, щоб визначити негативну узгодженість (відносна специфічність), 400 здорових донорів крові були досліджені за допомогою **AESKUBLOT Borrelia-G/M**.

35 були визначені позитивними для IgG з набором **AESKUBLOT Borrelia-G**. Це становить **91.3%**.

11 були визначені позитивними для IgM з набором **AESKUBLOT Borrelia-M**. Це становить **97.3%**.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com