

НАБІР ІФА

ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ КЛАСУ IgG ДО ДИФТЕРІЇ В СИРОВАТЦІ І ПЛАЗМІ ЛЮДИНИ

RE56191, Diphtheria IgG ELISA

Каталог. № : **RE56191** Методика від **09-2012**
Кількість : **96**
Виробник : **IBL (Німеччина)**



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

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення антитіл класу IgG проти дифтерії в сироватці і плазмі.

2. УЗАГАЛЬНЕННЯ І ПОЯСНЕННЯ (Див. Оригінал інструкції).

3. ПРИНЦИП РОБОТИ ТЕСТУ

Імуноферментний аналіз твердої фази (ELISA), заснований на принципі сендвіча. Лунки покриті антигеном. Специфічні антитіла зразка, пов'язані з антигеном, нанесеним в лунках, виявляються за допомогою вторинного антитіла, кон'югованого з ферментом (E-Ab), специфічного для людського IgG. Після реакції субстрату інтенсивність кольору пропорційна кількості IgG-специфічних антитіл. Результати зразків можуть бути визначені безпосередньо за допомогою стандартної кривої.

4. ПРЕДУПРЕЖДЕННЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Тільки для використання в In-vitro діагностиці. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком проведення тесту повністю і уважно прочитати інструкцію. Використовувати діючу версію інструкції, наданої з набором. Переконайтеся в тому, що все зрозуміло.
3. У випадку серйозного пошкодження набору звертайтеся до IBL або постачальника в письмовій формі, не пізніше одного тижня після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти в аналізі, але зберігайте їх для розгляду скарг, пов'язаних з питанням.
4. Дотримуйтеся номеру партії і терміну придатності. Не змішуйте реагенти з різних партій. Не використовуйте прострочені реагенти.
5. Дотримуйтеся керівних принципів лабораторної практики і безпеки. Носіть халат, одноразові латексні рукавички і захисні окуляри, коли це необхідно.
6. Реагенти даного набору, що містять небезпечну речовину, можуть викликати подразнення очей і шкіри. Деталі дивитися на етикетках. Паспорти безпеки для даного продукту доступні на сайті IBL або за запитом безпосередньо з IBL.
7. Хімічні речовини і приготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національних правил біологічної та техніки безпеки.
8. Уникати контакту зі Стоп-розчином. Це може викликати подразнення шкіри і опіки.
9. Деякі реагенти містять азид натрію (NaN₃) в якості консервантів. У разі потрапляння в очі або на шкіру, негайно промийте водою. NaN₃ може реагувати зі свинцем і міддю і формувати вибухонебезпечні азиди металів. При утилізації реагентів, промийте великою кількістю води, щоб уникнути азидного наошування.
10. Всі реагенти даного набору, що містить людську сироватку або плазму, були перевірені і знайдені негативними до анти-ВІЛ I/II, HBsAg і анти-HCV. Проте, присутність цих або інших інфекційних агентів не може бути виключена абсолютно і тому реагенти повинні розглядатися як потенційно інфекційні у використанні і утилізації.

5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір поставляється при температурі навколишнього середовища і повинен зберігатися при температурі 2-8 °C. Берегти від тепла або прямих сонячних променів. Про зберігання та стабільність зразка і підготовлених реагентів йдеться у відповідних розділах. Мікротитрувальні смужки стабільні до закінчення терміну дії набору при зберіганні в щільно закритому пакеті при температурі 2-8 °C.

6. ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

Сироватка, плазма (ЕДТА, гепарин)

Дотримуватись звичайних застережних заходів при венепункції. Важливо зберегти хімічну цілісність зразка крові з моменту його забору до аналізу. Не використовуйте сильно гемолізовані, іктеричні або ліпемічні зразки. Зразки, що виглядають каламутними, необхідно центрифугувати перед тестуванням, щоб видалити всі тверді матеріали.

Зберігання:	2-8 °C	- 20 °C	Берегти від тепла або прямих сонячних променів. Уникати повторних циклів заморожування/розморозки.
Стабільність:	2 дні	>2 днів	

7. МАТЕРІАЛИ, ЩО ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Кількість	Компонент
1 x 12 x 8	Мікротитраційний планшет Відривні смужки. З нанесеним специфічним антигеном.
1 x 5 x 2 мл	Стандарти А-Е 0; 0.01; 0.1; 0.5; 1.0 МОд/мл Готові до використання. Калібровані проти ВООЗ 00/496. Містять: Людська сироватка, IgG антитіла проти дифтерії, PBS, стабілізатори.
1 x 15 мл	Ферментний кон'югат IgG Червоного кольору. Готовий до використання. Містить: анти-людський IgG, кон'югований з пероксидазою, білок, що містить буфер, стабілізатори.
1 x 60 мл	Буфер для розведення Готовий до використання. Містить: PBS буфер, BSA, < 0,1% NaN ₃ .
1 x 60 мл	Промивний буфер, Концентрат (10x) Містить: PBS буфера, Твін-20.
1 x 15 мл	Розчин субстрату ТМВ Готовий до використання. Містить: ТМВ.
1 x 15 мл	ТМВ Стоп-розчин Готовий до використання. 0.5 M H ₂ SO ₄ .
2 x	Адгезивна фольга Для покриття мікротитраційного планшета під час інкубації.
1 x	Пластиковий мішок Для сухого зберігання невикористовуваних смуг.

8. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ

1. Мікропіпетки (Мікропіпетки Еппендорфа або схожі пристрої, < 3% CV). Обсяги: 5; 50; 100; 500 мкл
2. Калібровані мірні пристрої
3. Пробірки (1 мл) для розведення зразка
4. 8-канальна мікропіпетка з резервуарами для реагентів
5. Бутля для промивання, автоматизована або напівавтоматична мікропланшетна система промивання
6. Мікропланшетний рідер, здатний вимірювати оптичну щільність при 450 нм (референсна довжина хвилі 600-650 нм)
7. Бідистильована або деіонізована вода
8. Паперові рушники, наконечники для піпеток і таймер

9. ЗАУВАЖЕННЯ ЩОДО ПРОВЕДЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. Будь-яке неправильне поводження зі зразками або модифікація процедури випробування можуть вплинути на результати. Зазначені обсяги піпетування, час інкубації, температури і кроки попередньої обробки повинні виконуватися строго відповідно до інструкції. Використовуйте тільки калібровані піпетки і пристрої.
2. Як тільки тест був запущений, всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої готові у відповідний час. Всі реагенти та зразки привезти до кімнати температури (18-25 °C) і обережно стряхнути кожен флакон рідкого реагенту і зразка перед використанням. Змішайте реагенти без утворення піни.
3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток і лунок/пробірок. Використовуйте нові одноразові пластикові наконечники для кожного компонента і зразка. Не міняйте кришки. Завжди закривайте флакони, які не використовуються. Не використовуйте повторно лунки/пробірки або реагенти.
4. Використовуйте схему піпетування для перевірки відповідного макета пластини.
5. Час інкубації впливає на результати. Всі лунки мають бути оброблені в тому ж самому порядку і проміжках часу. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для піпетування розчинів у всі лунки.
6. Промивання мікропланшета є важливим. Неправильне промивання лунок дасть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему промивки мікропланшета. Не дозволяйте лункам висохнути між інкубаціями. Не подряпайте лунки під час промивання і аспірації. Промивати і наповнювати реагентами з обережністю. Під час промивання переконайтеся, що всі лунки

точно заповнені Промивним буфером, і що немає ніяких залишків в лунках.

- Вологість впливає на лунки/пробірки. Не відкривайте упаковку, поки вона не досягне кімнатної температури. Невикористані лунки/пробірки повинні бути негайно повернуті в закритий пакет з осушувачем.

10. ІНСТРУКЦІЇ ПО ПІДГОТОВЦІ

10.1. Приготування компонентів

	Вміст комплекту для 96 визначень можна розділити на 3 окремих аналізи. Об'єми, наведені нижче, призначені для одного аналізу з використанням 4 смужок (32 визначення).
--	---

Розвести	Компонент		Розчинник	Співвідношення	Зауваження	Зберігання	Стабільність
20 мл	Концентрат Промивного буфера	200 мл	Бідист. вода	1:11	Підігріти при 37 °C для розчинення кристалів в разі потреби. Змішати енергійно.	2-8 °C	8 тижнів

10.2. Розведення зразків

Зразок	Розвести	з	Співвідношення	Зауваження
Сироватка/плазма	звичайно	Буфер для розведення	1:101	Наприклад, 5 мкл + 500 мкл Буфера для розведення

Зразки, що містять більш високі концентрації, ніж найвищий стандарт, мають бути розведені далі.

11. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ

1.	Внесіть 100 мкл кожного стандарту і розведеної сироватки або плазми у відповідні лунки.
2.	Накрити планшет плівкою. Інкубувати 60 хв. при 18-25 °C.
3.	Зніміть плівку. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте планшет 3 x з 300 мкл розведеного Промивного Буфера. Видалити надлишки розчину, постукаючи перевернутим планшетом по паперовому рушнику.
4.	Внесіть 100 мкл Ферментного Кон'югату в кожну лунку.
5.	Накрити планшет плівкою. Інкубувати 30 хв. при 18-25 °C.
6.	Зніміть плівку. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте планшет 3 x з 300 мкл розведеного Промивного Буфера. Видалити надлишки розчину, постукаючи перевернутим планшетом по паперовому рушнику.
7.	Для додавання Субстрату і Стоп Розчину використати, при наявності, 8-канальну мікропіпетку. Піпетування здійснювати в тих же часових інтервалах для Субстрату і Стоп-Розчину. Уникати утворення повітряних бульбашок.
8.	Внести 100 мкл Розчин субстрату ТМБ в кожну лунку.
9.	Інкубувати 20 хв. при температурі 18-25 °C в темряві (без плівки).
10.	Зупинити реакцію додаванням 100 мкл Стоп Розчину ТМБ в кожну лунку. Перемішати, обережно струшуючи планшет. Колір змінюється від синього до жовтого.
11.	Виміряти оптичну щільність за допомогою фотометра при 450 нм (референс-хвиля: 600-650 нм) на протязі 60 хв. після піпетування Стоп Розчину.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати випробувань дійсні тільки, якщо випробування було проведено відповідно до інструкції. Крім того, користувач повинен строго дотримуватися правил GLP (Good Laboratory Practice) або інших застосованих стандартів/законів. Усі стандарти мають знаходитись в межах прийнятних діапазонів, зазначених у Свідоцтві QC. Якщо критерії не дотримані, аналіз не є дійсним, і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки в якості додаткових контролів. Рекоменується взяти участь у відповідних випробуваннях з оцінки якості.

У разі будь-якого відхилення наступні технічні питання повинні бути доведені: Закінчення термінів придатності підготовлених реагентів, умови зберігання, піпетки, пристроїв, умови інкубації та методи промивки.

13. ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані ОЩ стандартів (вісь у, лінійні значення) відкладаються проти їх відповідних концентрації (вісь х, логарифмічні) на міліметровому папері або з використанням автоматичного методу. Добре підходить метод кубічного сплайна або крива точка-точка, так як ці методи дають найвищу точність при розрахунку даних.

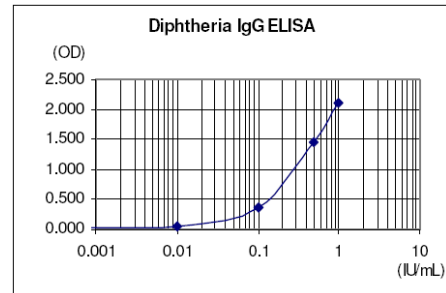
Для розрахунку стандартної кривої, застосовувати кожен сигнал стандартів (одне очевидне значення дублікатів, яке випадає, може бути опущено, і більш ймовірно одне значення може бути використане).

Концентрація зразків може бути зчитана безпосередньо із стандартної кривої.

Початкове розведення було прийнято до уваги при читанні результатів з графіка. Результати аналізів з високим попереднім розведенням повинні бути помножені на коефіцієнт розведення. Зразки, що показують концентрації вищі за найвищий стандарт, повинні бути розведені, як описано вище і знову проаналізовані.

Типова калібрувальна крива (Приклад. Не використовувати для розрахунків).

Стандарт	МОд/мл	OD _{середнє}
A	0	0.025
B	0.01	0.052
C	0.1	0.365
D	0.5	1.455
E	1.0	2.122



14. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

МОд/мл	Інтерпретація
< 0.1	Рекоменується елементарна імунізація
0.1 – 1.0	Рекоменується посилена імунізація
1.0 – 1.5	Посилена імунізація через 5 років
1.5 - 2.0	Посилена імунізація через 7 років
> 2.0	Посилена імунізація через 10 років

Результати самі по собі не повинні бути єдиною причиною для будь-яких терапевтичних заходів. Вони повинні корелювати з іншими клінічними спостереженнями і діагностичними тестами.

15. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

При дослідженні здорових осіб були отримані наступні результати:

Діапазон	x/56	%
< 0.01	0	0
0.01 – 0.1	0	0
0.1 – 1.0	40	71
> 1.0	16	29

Рекоменується, щоб кожна лабораторія встановлювала свій власний діапазон нормальних значень.

16. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Забір зразків має істотний вплив на результати випробувань. Дивись розділ ЗБІР ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ для деталей. Щодо перекресних реакцій див. розділ ХАРАКТЕРИСТИКИ. Азид і тімеросал в концентрації > 0.1% впливають на проведення аналізу, і можуть приводити до помилкових результатів. Наступні компоненти крові не мають значного впливу (\pm 20% від очікуваного) на результати випробувань до нижче зазначених концентрацій:

Hemoglobin	8.0 mg/mL
Bilirubin	0.3 mg/mL
Triglyceride	5.0 mg/mL

17. ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналітична специфічність (Перехресна реактивність)	Ніяких істотних перехресних реакцій не відомо.			
Аналітична специфічність (Межа виявлення)	0.004 МОд/мл	Середній сигнал (Нульовий Стандарт) + 2SD		
Точність	Середнє (МОд/мл)	CV (%)		
	В аналізі	0.5		7.5
	Між аналізами	0.48		4.9
Лінійність	Діапазон (МОд/мл)	Серійне розведення до	Діапазон (%)	
	0.02 – 0.26	1:8	78 - 133	
Відновлення	96 - 102	% Відновлення після насичення (n=3)		



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

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