

VetLine Babesia

ІФА

Тільки для ветеринарної діагностики *in vitro*.

Імуноферментний аналіз для якісного визначення антитіл до бабезії у ветеринарній сироватці

Інструкція із застосування

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

Номер продукту: BABVT0890 (96 визначень)

1. ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Апарат VetLine Babesia ІФА призначений для якісного визначення антитіл проти Babesia у ветеринарній сироватці. Завдяки використанню багатовидового кон'югату він також повинен бути придатним для інших видів ссавців.

2. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Якісне імуноферментне визначення специфічних антитіл базується на методиці 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 щільність при 450/620 нм зчитують за допомогою пристрою для зчитування ІФА Мікропланшетів.

3. МАТЕРІАЛИ

3.1. Реагенти в наборі

мікропланшет: 12 розділених 8-лункових відривних стріпів, покритих антигенами Babesia; в алюмінієвій фользі, що закривається.

Буфер для розведення зразка: 1 флакон, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для розведення зразка; рН $7,2 \pm 0,2$; пофарбований в жовтий колір; готовий до використання; білий ковпачок; $\leq 0,0015\%$ (об./об.) СМІТ/МІТ (3:1).

Стоп розчин: 1 флакон, що містить 15 мл сірчаної кислоти, 0,2 моль/л; готовий до використання; червоний ковпачок.

Промивний буфер (20x концентрація): 1 флакон містить 50 мл 20-кратної фосфат буф (0,2 концентрації ер М), рН $0,2 \pm 0,2$, для промивання лунок; білий ковпачок; 0,2% (мас./об.) 5-бром-5-нітро-1,3-діоксану.

кон'югат: 1 флакон, що містить 20 мл протеїну А/Г, міченого пероксидазою; жовтого кольору, готовий до використання; білий ковпачок; $\leq 0,02\%$ (об./об.) МІТ.

Розчин субстрату ТМБ: 1 флакон містить 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ), $< 0,1\%$; готовий до використання; жовтий ковпачок.

Позитивний контроль: 1 флакон, що містить 2 мл контролю; пофарбований в жовтий колір; готовий до використання; червона ковпачок; $\leq 0,02\%$ (об./об.) МІТ.

Контроль пороговий: 1 флакон, що містить 3 мл контролю; пофарбований в жовтий колір; готовий до використання; зелений ковпачок; $\leq 0,02\%$ (об./об.) МІТ.

Негативний контроль: 1 флакон, що містить 2 мл контролю; пофарбований в жовтий колір; готовий до використання; синій ковпачок; $\leq 0,0015\%$ (об./об.) СМІТ/МІТ (3:1).

Для інформації про безпеку 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°C

Ручне або автоматичне обладнання для промивання лунок мікропланшета

Піпетки для доставки об'ємів від 10 до 1000 мкл

Вихровий трубчастий змішувач

Дистильована вода

Одноразові трубки

4. СТІЙКІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати набір при $2...8^\circ\text{C}$. Розкриті реагенти стабільні до терміну придатності, зазначеного на етикетці, за умови зберігання при $2...8^\circ\text{C}$.

5. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Дуже важливо довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури ($20...25^\circ\text{C}$) і перемішати їх перед початком тестування!

5.1. Мікропланшет

Стріпи, що розриваються, покриті антигенами Babesia. Одразу після видалення стріпів решту стріпів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із осушувачем, що постачається, і зберігати при $2...8^\circ\text{C}$.

5.2. Промивний буфер (20x концентр.)

Розбавити промивний буфер 1 + 19; наприклад, 10 мл промивного буфера + 190 мл дистильованої води. Розведений буфер стабільний протягом 5 днів при кімнатній температурі ($20...25^\circ\text{C}$). У разі появи кристалів у концентраті підігрійте розчин до 37°C , наприклад, на водяній бані. Добре перемішайте перед розведенням.

5.3. Розчин субстрату ТМБ

Реагент готовий до використання і повинен зберігатися при 2...8 °С, захищеному від світла. Розчин повинен бути безбарвним або мати легкий блакитний відтінок. Якщо субстрат стає синім, можливо, він забруднений і його слід викинути.

6. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Використовуйте ветеринарні зразки сироватки для цього аналізу. Якщо аналіз проводиться протягом 5 днів після відбору зразків, зразки повинні зберігатися при 2...8 °С; в іншому випадку їх слід розділити на аликвоти та зберігати в глибокій заморозці (-70...-20 °С). 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 розвести 1+100 буфером для розведення зразків. Розподіліть 10 мкл зразка та 1 мл буфера для розведення зразків у пробірки, щоб отримати розведення 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. У разі виконання тесту на автоматичних системах ІФА ми рекомендуємо збільшити кількість етапів промивання з трьох до п'яти та об'єм промивного буфера з 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 стрипів 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 °С.

1. Розподіліть 100 мкл стандартів/контролів і розведених зразків у відповідні лунки. Залиште лунку А1 для бланка субстрату.
2. Накрийте лунки фольгою, що входить до набору.
3. **Інкубуйте протягом 1 години ± 5 хвилин при 37 ± 1 °С.**
4. Після завершення інкубації зніміть фольгу, аспіруйте вміст лунок і промийте кожну лунку тричі 300 мкл промивного буфера. Уникайте переливів з реакційних колодязів. Інтервал між промиванням і аспірацією повинен становити > 5 секунд. Наприкінці обережно видаліть залишки рідини, постукуючи стріпами по абсорбентному папері 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 А1 для бланка субстрату.
6. **Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (20...25 °С).** Не піддавати впливу прямих сонячних променів.
7. Повторіть крок 4.
8. Розподіліть 100 мкл розчину субстрату ТМБ в усі лунки.
9. **Інкубуйте рівно 15 хв при кімнатній температурі (20...25 °С) у темряві.** Синій колір виникає внаслідок ферментативної реакції.
10. Розподіліть 100 мкл стоп-розчину в усі лунки в тому ж порядку та з такою ж швидкістю, як і для розчину субстрату ТМБ, таким чином відбувається зміна кольору з синього на жовтий.
11. Виміряйте поглинання при 450/620 нм протягом 30 хвилин після додавання стоп-розчину.

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 виміряних 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 еталонної 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, необхідно суворо дотримуватися цих інструкцій із застосування та відповідати таким критеріям:

- **Бланк субстрату:** Значення поглинання < 0,100
- **Негативний контроль:** Значення поглинання < 0,200 і < порогового значення
- **Контроль пороговий:** Значення поглинання 0,150 – 1,300
- **Позитивний контроль:** Значення поглинання > Порогове значення

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

8.2. Підрахунок результатів

Порогове значення – це середнє значення поглинання визначень порогового контролю.

приклад: Значення поглинання порогового контролю 0,44 + значення поглинання порогового контролю 0,42 =
 0,86 / 2 = 0,43
 Порогове= 0,43

8.2.1. Результати в одиницях [НТОД]

Значення поглинання зразка (середнє) x 10 = [Одиниці NovaTec = НТОД]
Відскання

приклад: $\frac{1,591 \times 10}{0,43} = 37$ НТОД

8.3. Інтерпретація результатів

Порогове	10 НТОД
Позитивний	> 11 НТОД
Сумнівний	9 – 11 НТОД
Негативний	< 9 НТОД

9. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Щоб отримати додаткову інформацію про конкретні робочі характеристики, зверніться до Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH.

9.1. Точність

9.2. Діагностична специфічність

9.3. Діагностична чутливість

9.4. Вплив

Вплив гемолітичних, ліпемічних або жовтяничних зразків не спостерігаються до концентрації 10 мг/мл гемоглобіну, 5 мг/мл тригліцеридів і 0,5 мг/мл білірубину.

9.5. Перехресна реактивність

Не можна виключити перехресні реакції.

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.
- 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 замінійте реагенти або стріпи 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 та розподіляйте реагенти, не розбризкуючи їх акуратно в лунки.
- ІФА призначений лише для кваліфікованого персоналу, який знайомий з належною лабораторною практикою.
- Для подальшого внутрішнього контролю якості кожна лабораторія повинна додатково використовувати відомі зразки.

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).
Таким чином, застосовуються наступні заяви про безпеку та застереження.

	УВАГА	H315 H319 P280 P302+P352	Викликає подразнення шкіри. Викликає серйозне подразнення очей. Одягайте захисні рукавички/захисний одяг.
		P305+P351+P338	У РАЗІ ПОТРАПЛЯННЯ НА ШКІРУ: промити великою кількістю води з милом. ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промийте водою протягом кількох хвилин.
		P337+P313	Зняти контактні лінзи, якщо є і це легко зробити. Продовжуйте полоскання. 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.


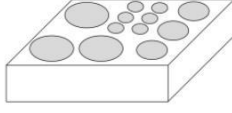

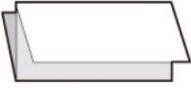



12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

Виробник №: BABVT0890 VetLine Babesia ІФА (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	PAP 22
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">SOLN</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">СТОП</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">CONJL</div> </div> <div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">WASH</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">BUF</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">20x</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">CONTROL +</div> </div> <div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">SUB</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">TMB</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">CONTROL -</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">CUT OFF</div> </div> <div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">DIL</div> </div> </div>			<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-bottom: 2px;">MTP</div>
			
HDPE 2	PP 5	PET / ALU / LDPE 90	

СИМВОЛИ

	Виробник
ЛОТ	Номер лота
	Термін придатності
	Температура зберігання
REF	Номер каталожний
	Перегляньте інструкції з використання
МТР	Мікропланшет
CONJL	Кон'югат
CONTROL -	Негативний контроль
CONTROL +	Позитивний контроль
CUT OFF	Пороговий контроль
DIL	Буфер для розведення зразків
SOLN СТОП	Стоп розчин
SUB TMB	ТМБ розчин субстрату
WASH BUF 20x	Промивний буфер 20x концентрований
	Містить достатньо для «n» тестів

РЕЗЮМЕ ПРОЦЕДУРИ ВИПРОБУВАННЯ СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ

VetLine Babesia IFA


Підготовка до тесту

Підготуйте реагенти та зразки, як описано.
Встановіть план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів.
Виберіть потрібну кількість мікротитраційних стрипів або лунок і вставте їх у тримач.

Процедура аналізу

	Бланк субстрату (A1)	Негативний КОНТРОЛЬ	пороговий КОНТРОЛЬ	Позитивн ий КОНТРО ЛЬ	Зразок (розбавлений 1+100)
Негативний контроль	-	100 мкл	-	-	-
Контроль пороговий	-	-	100 мкл	-	-
Позитивний 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 промивного буфера					
Кон'югат	-	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 промивного буфера					
Субстрат ТМБ Розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубуйте рівно 15 хв при кімнатній температурі (20...25 °C) у темряві					
Стоп розчин	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

 dstrasse 23 A6
63128 Dietzenbach, Німеччина
тел.: +49 6074 23698-0
Факс: +49 6074 23698-900
Електрон
на
пошта: Info.Frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com
Clinical.goldstandarddiagnostics.com
сайт: m