

VetLine Dirofilaria Antigen

ІФА

RUO

Тільки для дослідницького 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

Номер продукту: DIRVT4760 (96 визначень)

1. ВСТУП

2. ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Якісне імуноферментне визначення специфічних антигенів базується на методиці ІФА (імуноферментний аналіз). Мікропланшети покриті специфічними антитілами для зв'язування відповідних антигенів зразка. Після промивання лунок для видалення всього незв'язаного матеріалу зразка додається кон'югат антитіла, міченого пероксидазою хрому (HRP). Цей кон'югат зв'язується із захопленими антигенами. 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 антигенів 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.

4. МАТЕРІАЛИ

- 4.1. Реагенти в наборі**
- **мікропланшет:** 12 розділених 8-лункових відривних стрипів, покритих антитілами проти *Dirofilaria*; 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 ± 0,2; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; біла ковпачок; ≤ 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 (20х концентрація):** 1 флакон 50 мл з у 20 концентров фосфат буфе (0,2 містить разів аний р М), рН 7,2 ± 0,2, для промивання лунок; білий ковпачок.
 - **кон'югат:** 1 флакон, що містить 15 мл мічених пероксидазою антитіл проти *Dirofilaria*; червоного кольору, готовий до використання; білий ковпачок; ≤ 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; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; червоний ковпачок; ≤ 0,02 % (об./об.) МІТ.
 - **Контроль пороговий:** 1 флакон, що містить 3 мл контролю; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; зелений ковпачок; ≤ 0,02 % (об./об.) МІТ.
 - **Негативний контроль:** 1 флакон, що містить 2 мл контролю; пофарбовані в жовтий колір; готовий до використання; синій ковпачок; ≤ 0,0015 % (об./об.) СМІТ/МІТ (3:1).

Для інформації про небезпеку та застереження див. 12.1

Для потенційно небезпечних речовин, будь ласка, перевірте паспорт безпеки.

- 4.2. Матеріали поставлені**
- 1 Накрийте фольгою
 - 1 Інструкція із застосування (IFU)
 - 1 Розкладка планшету

- 4.3. Необхідні матеріали та обладнання**
- Зчитувач мікропланшетів ІФА, обладнаний для вимірювання поглинання при 450/620 нм
 - Інкубатор 37 °С
 - Ручне або автоматичне обладнання для промивання лунок мікропланшета
 - Піпетки для доставки об'ємів від 10 до 1000 мкл
 - Вихровий трубчастий змішувач
 - Дистильована вода
 - Одноразові пробірки
 - Нагрівальний блок
 - Центрифуга

5. 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.

6. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

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

6.1. Мікропланшет

Стріпи, що відриваються, покриті антитілами проти *Dirofilaria*. Одразу після видалення стрипів решту стрипів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із осушувачем, що постачається, і зберігати при 2...8 °С.

6.2. Промивний буфер (20х 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 °С). У разі появи кристалів у концентраті підігрійте розчин до 37 °С, наприклад, на водяній бані. Добре перемішайте перед розведенням.

6.3. 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.

7. 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.

7.1. Розведення зразка та тепла інкубація

Перед аналізом усі зразки слід розвести 1+1 буфером для розведення зразків. Розподіліть 250 мкл зразка та 250 мкл буфера для розведення зразків у пробірки, щоб отримати розведення 1+1, і ретельно перемішайте за допомогою Vortex. У разі ймовірного хибнонегативного результату зразок слід обробити теплою інкубацією для інактивації внутрішніх антитіл. Приклад протоколу: розведений зразок (щонайменше 500 мкл) слід інкубувати протягом 10 хвилин при 104 °С на нагрівальному блоці. Потім центрифугуйте зразок при 16 000 x g протягом 5 хвилин. Супернатант можна використовувати як матеріал зразка для подальшого тестування.

8. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Перед проведенням аналізу уважно прочитайте інструкцію із застосування. Надійність результату залежить від суворого дотримання інструкції із застосування. 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 главу 12. Перед початком аналізу план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів (рекомендовано дублікати) має бути ретельно встановлений на схемі планшета, що постачається в наборі. 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.

8.1. 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 вимірних значень поглинання, щоб отримати надійні результати!

Виміряйте поглинання всіх лунок при 450 нм і запишіть значення поглинання для кожного стандарту/контролю та зразка в плані планшета.

Рекомендується біхроматичне вимірювання з використанням еталонної довжини хвилі 620 нм.

Якщо можливо, розрахуйте середнє значення поглинання для всіх дублікатів.

9. РЕЗУЛЬТАТИ

9.1. Виконайте критерії перевірки

Щоб аналіз вважався дійсним, необхідно відповідати наступним критеріям:

- **Бланк субстрату:**Значення поглинання < 0,100
- **Негативний контроль:** Значення поглинання < 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.

9.2. Підрахунок результатів

Порогове значення – це середнє значення поглинання визначень порогового контролю.

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

9.2.1. Результати в одиницях [НТОД]

$\frac{\text{Значення поглинання зразка (середнє)} \times 10}{\text{Порогове}}$ = [Одиниці NovaTec = НТОД]

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

9.3. Інтерпретація результатів

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

10. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для отримання додаткової інформації про конкретні робочі характеристики, будь ласка, зв'яжіться з NovaTec Immundiagnostica GmbH.

10.1. Точність

10.2. Діагностична специфічність

10.3. Діагностична чутливість

10.4. Втручання

Перешкоди з гемолітичними, ліпемічними або жовтяничними зразками не спостерігаються до концентрації 10 мг/мл гемоглобіну, 5 мг/мл тригліцеридів і 0,5 мг/мл білірубину.

10.5. Перехресна реактивність

11. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Бактеріальне забруднення або повторювані цикли заморожування-розморожування зразка можуть вплинути на значення поглинання.

12. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Тільки для дослідницького використання!

- 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 без акуратного розбризкування в лунки.
- ІФА призначений лише для кваліфікованого персоналу, який знайомий з належною лабораторною практикою.

12.1. Правила безпеки для реагентів, що містять небезпечні речовини

Реагенти можуть містити СМІТ/МІТ (3:1) або МІТ (див.

4.1). Тому застосовуються наступні заяви про небезпеку та застереження.

УВАГА

H317	Може викликати шкірну алергічну реакцію.
P261	Уникайте вдихання спрею
P280	Одягайте захисні рукавички/захисний одяг. У РАЗІ ПОТРАПЛЯННЯ НА ШКІРУ: промити
P302+P352	великою кількістю води з милом. У разі подразнення шкіри або висипу: Зверніться
P333+P313	до лікаря.
P362+P364	Зніміть забруднення та вимийте його перед повторним використанням.



Додаткову інформацію можна знайти в паспорті безпеки.

12.2. 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.

13. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ






Виробник №: DIRVT4760 VetLine Dirofilaria Antigen ІФА (96 визначень)

БІБЛІОГРАФІЯ

СКОРочЕННЯ

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

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 ІСПИТУ СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ

VetLine Dirofilaria Antigen ІФА

Підготовка до аналізу

Підготуйте реагенти та зразки, як описано.


Створіть план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів на планшетах макет поставляється в наборі.

Виберіть потрібну кількість мікротитраційних стрипів або лунок і вставте їх у тримач.

Процедура аналізу

	Бланк субстрату (A1)	Негативний КОНТРОЛЬ	Пороговий КОНТРОЛЬ	Позитивний КОНТРОЛЬ	Зразок (розбавлений 1+1)
Негативний контроль	-	100 мкл	-	-	-
Контроль пороговий	-	-	100 мкл	-	-
Позитивний контроль	-	-	-	100 мкл	-
Зразок (розбавлений 1+1)	-	-	-	-	100 мкл
<p>Накрийте лунки фольгою, що входить до набору</p> <p>Інкубуйте протягом 1 години при 37±1 °C</p> <p>Промийте кожну лунку тричі 300 мкл промивного буфера</p>					
Кон'югат	-	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
<p>Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (20...25 °C)</p> <p>Не піддавати впливу прямих сонячних променів</p> <p>Промийте кожну лунку тричі 300 мкл промивного буфера</p>					
Субстрат ТМБ Розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
<p>Інкубуйте рівно 15 хв при кімнатній температурі (20...25 °C) у темряві</p>					
Стоп розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
<p>Фотометричне вимірювання при 450 нм (референтна довжина хвилі: 620 нм)</p>					

NovaTec Immundiagnostica GmbH

Waldstraße 23 A6
 28 Dietzenbach, Німеччина

тел. +49 (0) 6074-48760

Факс +49 (0) 6074-487629

:

с:

Електронна пошта info@NovaTec-ID.com

а:

Інтернет www.NovaTec-ID.com

т: