

НАБІР РЕАГЕНТІВ

ANTIZONA PELLUCIDA AB ELISA

AntiZona Pellucida Ab

Каталог. №: **EIA-6138**

Дата випуску інструкції: **2020/01**
Версія **1.0**



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

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Даний набір – це імуноферментний аналіз для кількісного *in vitro* **діагностичного** вимірювання антитіл спрямованих проти zona pellucida у сироватці.

1.1 Інформація

Антитіла, спрямовані проти антигенів zona pellucida, можуть викликати безпліддя у жінок. Виявлення антитіл anti-zona pellucida можуть служити допоміжним засобом для діагностики імунологічно викликаних порушень фертильності.

2. ПРИНЦИП ТЕСТУ

DRG AntiZona Pellucida Ab ELISA - це твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА), заснований на принципі сендвіча.

Мікротитрові лунки покриті антигеном zona pellucida.

Під час інкубації, специфічні антитіла до zona pellucida людини у зразку пацієнта зв'язуються з накритою поверхнею лунок.

На етапі промивання видаляються незв'язані компоненти зразка.

Доданий ферментний кон'югат зв'язується з іммобілізованими комплексами антитіло-антиген. Кон'югат містить поліклональні антитіла, спрямовані проти епітопів на Fc-частині імуноглобулінів людини та маркований пероксидазою хрому (HRP).

Після етапу промивання для видалення всіх незв'язаних речовин твердо фази інкубують з розчином субстрату. Колориметричну реакцію різко припиняють додаванням стоп-розчину та вимірюється оптична щільність (ОЩ) отриманого жовтого кольору.

Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації специфічних антитіл у зразку. Стандартна крива будується шляхом побудови графіків значень ОЩ відносно концентрацій стандартів та концентрації невідомих зразків визначаються за допомогою цієї стандартної кривої.

3. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Цей набір призначений тільки для діагностики *in vitro*. Тільки для професійного використання.
2. Всі реагенти цього тест-набору, які містять людську сироватку або плазму, були протестовані і виявлені негативними до ВІЛ I/II, HbsAg та HCV за допомогою схвалених FDA процедур. Проте, всі реагенти слід розглядати як потенційно небезпечні під час використання та утилізації.
3. Перед початком аналізу, повністю та уважно прочитайте інструкцію. Використовуйте тільки дійсну версію інструкції-вкладиша, яка постачається з набором. Переконайтеся, що все зрозуміло.
4. Мікропланшет містить відривні смужки. Не використані лунки потрібно зберігати при температурі від 2°C до 8°C у герметичній упаковці та використовувати з рамкою, яка постачається.
5. Піпетування зразків та реагентів потрібно проводити якомога швидше в тій самій послідовності для кожного етапу.
6. Використовуйте контейнери тільки для одного реагенту. Це особливо стосується контейнерів для субстрату. Використання контейнера для розчину субстрату, який до того, використовувався для розчину кон'югату може спричинити забарвлення розчину. Не виливайте реагенти назад у флакони так, як може відбутися забруднення реагенту.
7. Ретельно перемішайте вміст мікропланшетних лунок, щоб забезпечити добрі результати аналізів. Не використовуйте повторно мікролунки.
8. Не допускати, щоб лунки висихали під час аналізу; додавайте реагенти негайно після завершення етапів промивання.
9. Почекайте поки реагенти досягнуть кімнатної температури (20°C до 26°C) перед початком тестування. Температура може вплинути на показники поглинання аналізу. Проте, на значення для зразків пацієнта не впливатиме.
10. Ніколи не піпетуйте ротом та уникайте контакту реагентів та зразків

зі шкірою та слизовими оболонками.

11. Не куріть, не їжте, не пийте та не користуйтеся косметикою у місця обробки зразків або реагентів набору.
12. Одягайте одноразові латексні рукавиці під час обробки зразків та реагентів. мікробне забруднення реагентів або зразків може дати неправильні результати.
13. Обробка повинна здійснюватися у відповідності з процедурами, визначеними відповідними національними правилами безпеки щодо біологічної безпеки.
14. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, який вказаний на етикетці.
15. Всі вказані обсяги повинні виконуватися відповідно до протоколу. Оптимальні результати тесту можна отримати тільки після використання відкаліброваних піпеток та мікропланшетного зчитувача.
16. Не змішуйте або використовуйте компоненти з наборів з різними номерами лотів. Не рекомендується міняти лунки різних пластин навіть одного лоту. Набори можуть транспортуватися або зберігатися в різних умовах, а характеристики зв'язування пластин можуть дещо відрізнятись.
17. Уникайте контакту зі Стоп Розчином, який містить 0.5 M H₂SO₄. Це може викликати подразнення шкіри або опіки.
18. Деякі реагенти містять Proclin 300, BND, та/або MIT в якості консервантів. У випадку попадання в очі або на шкіру негайно промити водою.
19. ТМБ субстрат має подразнюючу дію на шкіру та слизову. У випадку попадання в очі, промийте достатньою кількістю води, а шкіру промийте з милом та великою кількістю води. Промийте забруднені об'єкти перед повторним використанням. При вдиханні – виведіть людину на свіже повітря.
20. Хімічні речовини та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до правил або вимог національної біологічної безпеки.
21. Щодо інформації про небезпечні речовини, які входять до набору зверніться до Паспорта безпеки даних. Паспорт безпеки даних для цього продукту доступний за запитом безпосередньо від DRG.

4. РЕАГЕНТИ

4.1 Реагенти, що постачаються у наборі

1. **Мікротитрові лунки**, 12 x 8 (відривні) смужки, 96 лунок; Лунки покриті антигеном zona pellucida. (вкл. 1 герметичну плівку)
2. **Стандарт (Стандарт 1-4)**, 4 флакони, по 0.5 мл кожен, готові до використання; Концентрації: 6 - 25 - 50 - 100 О/мл Містить нертутний консервант.
3. **Контроль якості**, 1 флакон, по 0.5 мл кожен, готові до використання; Значення та діапазони для контролів дивитися на етикетці або Сертифікаті контролю якості. Містить нертутний консервант.
4. **Буфер для розведення/Нульовий Стандарт**, 1 флакон, 50 мл, готові до використання; Концентрація: 0 О/мл Містить нертутний консервант.
5. **Ферментний кон'югат***, 1 флакон, 6 мл, готовий до використання. Антитіло до IgG людини, кон'юговане з пероксидазою хрому; Містить нертутний консервант.
6. **Розчин субстрату**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання; Тетраметилбензидин (ТМБ).
7. **Стоп Розчин**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, містить 0.5 M H₂SO₄. Уникайте контакту зі стоп розчином. Це може спричинити подразнення шкіри та опіки.
8. **Промивний розчин**, 1 флакон, 30 мл (40X концентрований), див. «Підготовка реагентів».

4.2 Необхідні матеріали, які не постачаються

- Мікропланшетний відкалібрований зчитувач (450 нм з референсною довжиною хвилі від 620 нм до 630 нм)(напр. DRG Instruments Microtiter Plate Reader)
- Відкалібровані змінні прецизійні мікропіпетки
- Пробірки для розведення зразків
- Абсорбуючий папір
- Дистильована вода
- Таймер
- Графічний папір або програмне забезпечення для обробки даних

4.3 Умови зберігання

За умови зберігання при температурі 2 - 8°C закриті реагенти залишаються

реактивними до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності. Відкриті реагенти слід зберігати при температурі 2°C - 8°C. Мікротитрові лунки потрібно зберігати при температурі 2°C - 8°C. Якщо герметичний мішечок відкрили, то знову щільно закрийте його. Відкриті набори зберігають активність протягом 4 тижнів, за умови зберігання як описано вище.

4.4 Підготовка реагентів

Дозвольте всім реагентам та необхідній кількості смужок досягнути кімнатної температури перед використанням.

Промивний розчин

Додати деіонізовану воду до 40X концентрованого Промивного розчину. Розвести 30 мл концентрованого Промивного розчину з 1170 мл деіонізованої води до кінцевого об'єму 1200 мл. Розведений Промивний розчин стабільний протягом 2 тижнів при кімнатній температурі.

4.5 Утилізація набору

Утилізацію набору слід робити відповідно до національних вимог. Спеціальну інформацію про цей продукт можете знайти у Паспорті безпеки матеріалів, розділ 13.

4.6 Пошкодження тестових наборів

У разі виникнення серйозних пошкоджень тестового набору або компонентів, компанію DRG слід проінформувати у письмовій формі не пізніше, ніж через тиждень після отримання набору. Сильно пошкоджені окремі компоненти не повинні використовуватися для тестового прогону. Їх потрібно зберігати, поки не буде знайдено остаточне рішення. Після цього їх слід утилізувати відповідно до офіційних правил.

5. ЗАБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА

У цьому аналізі можна використовувати сироватку.

Примітка: зразки, що містять азид натрію не можна використовувати в аналізі.

Загалом, слід уникати використання гемолітичних, іктеричних або ліпемічних зразків.

5.1 Забір зразка

Сироватка:

Зробіть забір крові шляхом венепункції (напр. Sarstedt Monovette для сироватки), дозвольте згорнутися, та відділіть сироватку шляхом центрифугування при кімнатній температурі. Не центрифугуйте, поки кров повністю не згорнеться. Для зразків крові пацієнтів, які отримують антикоагулянтну терапію, потрібно більше часу для згортання.

5.2 Зберігання та підготовка зразка

Зразки потрібно зберігати закритими до 7 днів при температурі 2°C - 8°C перед тестуванням.

Для довготривалого зберігання (до 12 місяців), зразки потрібно заморозити при температурі -20°C тільки один раз. Розморожені зразки слід інвертувати кілька разів перед тестуванням.

5.3 Розведення зразків

Перед тестуванням зразок пацієнта слід розвести **1/100 Буфером для розведення**.

Приклад:

розведення 1:100: 5 мкл зразка + 495 мкл Буферу для розведення (ретельно перемішати)

Примітка: Контроль якості готовий до використання і його не потрібно розводити!

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

6.1 Загальні зауваження

- Дуже важливо довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури перед використанням. Усі реагенти слід перемішати без утворення піни.
- Якщо тестування розпочато, то всі етапи слід пройти без перерви.
- Використовуйте новий одноразовий пластиковий наконечник для кожного стандарту, контролю або зразка, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Оптична щільність – це функція часу інкубації та температури. Перед початком аналізу, рекомендується, щоб усі реагенти були готові, кришечки зняті, всі необхідні лунки закріплені на тримачі і т. д. Це забезпечить рівний час для кожного етапу піпетування без переривання.

- Як правило, ферментативна реакція лінійно-пропорційна до часу та температури.

6.2 Процедура тестування

Кожен пробіг повинен включати стандартну криву.

1. Закріпіть необхідну кількість мікротитрових лунок на тримачі.
2. Додайте **50 мкл** кожного **Нульового Стандарту, Стандарту, Контролю якості та розведених зразків з новими одноразовими наконечниками** у відповідні лунки.
3. Накрийте плівкою та інкубуйте протягом **60 хвилин** при **37°C**.
4. Промийте лунки **3 рази з 400 мкл** розведеного Промивного розчину на лунку, якщо використовуєте вошер для планшетів.
- АБО –
Різько витрусіть вміст лунок.
Промийте лунки **3 рази з 300 мкл** розведеного Промивного розчину на лунку для ручного промивання. Витрусіть лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки вологи.
Важлива примітка: На чутливість та точність цього аналізу помітно впливає правильне виконання процедури миття!
5. Додайте **50 мкл Ферментного кон'югату** у кожну лунку. Ретельно перемішайте протягом 10 секунд. На цьому етапі важливо добре перемішати.
6. Накрийте плівкою та інкубуйте протягом **60 хвилин** при **37°C**.
7. Промийте лунки **5 разів з 400 мкл** розведеного Промивного розчину на лунку, якщо використовуєте вошер для планшетів.
- АБО –
Різько витрусіть вміст лунок.
Промийте лунки **5 разів з 300 мкл** розведеного Промивного розчину на лунку для ручного промивання. Витрусіть лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки вологи.
8. Додайте **50 мкл Розчину Субстрату** у кожну лунку.
9. Інкубуйте протягом **30 хвилин** при кімнатній температурі.
10. Зупиніть ферментативну реакцію, додавши **50 мкл Стоп-розчину** у кожну лунку.
11. Визначіть абсорбцію оптичної щільності кожної лунки при **450 нм (зчитування) та при 620 - 630 нм (рекомендується фонове віднімання)** за допомогою зчитувача мікротитрових планшетів. Рекомендується зчитувати усі лунки **протягом 10 хвилин** після додавання Стоп розчину.

6.3 Обчислення результатів

1. Обчисліть середні значення абсорбції для кожного набору стандартів, контролів та зразків пацієнтів.
2. Використовуючи напівлогарифмічний міліметровий папір, побудуйте стандартну криву, позначивши середні значення поглинання, отримане з кожного стандарту, проти його концентрації зі значенням поглинання на вертикальній осі (Y) та концентрацію на горизонтальній осі (X).
3. Використовуючи середні значення абсорбції для кожного зразка, визначіть відповідну концентрацію за стандартною кривою.
4. Автоматизований метод: результати в Інструкції з використання були розраховані автоматично за допомогою 4-параметричної кривої. (4 параметри Parabard Rodbard або 4 Parameter Marquardt є кращими методами.) Інші функції зменшення даних можуть дати дещо інші результати.
5. Концентрацію зразків можна зчитувати безпосередньо з цієї стандартної кривої.

Стандарти вже попередньо розведені, тому розведення 1/100 зразків не слід враховувати для остаточного розрахунку концентрацій зразків.

6.3.1 Приклад типової стандартної кривої

Наступні дані призначені лише для демонстрації та **не можуть** бути використані замість генерації даних на момент аналізу.

Стандарт	Оптичні одиниці (450 нм)
Нульовий Стандарт	0.03
Стандарт 1	0.42
Стандарт 2	1.08
Стандарт 3	1.69
Стандарт 4	2.40

7. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ НОРМИ

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала свої значення норми та патології.

Значення норми 0 - 10 О/мл
Підвищені значення >10 О/мл

Окремі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Результати слід співвідносити з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

8. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Належна лабораторна практика вимагає, щоб контроль запускали з кожною калібрувальною кривою. Статистично значущу кількість контролів слід перевірити, щоб встановити середні значення та допустимі діапазони для забезпечення належних показників.

Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до державних та федеральних норм. Рекомендується використовувати контрольні зразки для забезпечення повсякденної достовірності результатів. Використовуйте контрольні як на нормальному, так і на патологічному рівні.

Контролі та відповідні результати лабораторії контролю якості зазначені у сертифікаті контролю якості, доданому до набору. Значення та діапазони, зазначені в Сертифікаті контролю якості, завжди відносяться до поточної партії набору і повинні використовуватися для прямого порівняння результатів.

Також рекомендується використовувати національні або міжнародні програми оцінки якості для забезпечення точності результатів. Використовуйте відповідні статистичні методи для аналізу контрольних значень та тенденцій. Якщо результати аналізу не відповідають встановленим допустимим діапазонам контрольних матеріалів, результати пацієнта слід вважати недійсними.

У цьому випадку, будь ласка, перевірте наступні технічні області: Пристрої для піпетування та вимірювання часу; фотометр, термін придатності реагентів, умови зберігання та інкубації, методи аспірації та промивання. Якщо ви перевірили вищевказані пункти і не знайшли жодної помилки, зверніться безпосередньо до свого дистриб'ютора або DRG.

9. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 В аналізі

Середній КВ: 6.8% (діапазон від 5.1% - 7.9%)

Для визначення точності в аналізі було використано 6 наборів із 6 різних партій (виготовлених у різні дні). Один зразок пацієнта (ОЩ > 1.0) застосовували 96 разів за процедуру тестування.

9.2 Між аналізами

Середній КВ: 7.2% (діапазон від 5.5% до 9.0%)

Для визначення коефіцієнта варіації між аналізами було використано одну смужку з 12 наборів, що випливають із 6 різних партій (виготовлених у різні дні). Один зразок пацієнта (ОЩ > 1,0) застосовували 72 рази за процедуру тестування.

10 ОБМЕЖЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Надійні та відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу буде виконана з повним розумінням інструкції та з дотриманням належної лабораторної практики.

Будь-яке неналежне поводження зі зразками або зміна цього випробування можуть вплинути на результати.

10.1 Інтерферуючі речовини

Не слід застосовувати сильні гемолітичні або ліпемічні сироватки або сироватки від пацієнтів із захворюваннями печінки.

На результати можуть негативно впливати певні патологічні стани, такі як полі- та моноклональні гаммопатії, аутоімунні захворювання або зміна імунного статусу.

11. ПРАВОВІ АСПЕКТИ

11.1 Надійність результатів

Випробування необхідно проводити точно згідно з інструкціями виробника. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (Доброї лабораторної практики) або інших застосованих національних стандартів та / або законів. Це особливо актуально для використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати, в процедурі тестування, достатню кількість контролів для перевірки точності та достовірності тесту.

Результати випробувань є дійсними, тільки якщо всі контролі знаходяться в межах вказаних діапазонів, і якщо всі інші параметри випробувань також входять до заданих специфікацій аналізу. У разі виникнення будь-яких сумнівів або занепокоєння звертайтеся до DRG.

11.2 Терапевтичні висновки

Терапевтичні висновки ніколи не повинні ґрунтуватися тільки на лабораторних результатах, навіть якщо всі результати випробувань узгоджуються з пунктами 11.1. Будь-який лабораторний результат є лише частиною загальної клінічної картини пацієнта. Тільки в тих випадках, коли результати лабораторних досліджень у прийнятній формі

узгоджуються з загальною клінічною картиною пацієнта, слід вивести терапевтичні наслідки.

Сам результат тесту ніколи не повинен бути єдиним визначальним чинником для отримання будь-яких терапевтичних висновків.

11.3 Надійність

Будь-яка модифікація тестового набору та / або обміну або змішування будь-яких компонентів різних лотів від одного тестового набору до іншого може негативно вплинути на очікувані результати і обґрунтованість загального тесту. Такі зміни та / або обміни скасовують будь-які вимоги щодо заміни.

Претензії, подані внаслідок неправильного тлумачення результатів лабораторних досліджень згідно з пунктом 11.2, також є недійсними. Незалежно від того, у випадку будь-якої претензії, відповідальність виробника не повинна перевищувати вартість тестового набору. Виробник не несе відповідальності за будь-які пошкодження набору, що сталися під час транспортування.



ВИРОБНИК

DRG Instrumente GmbH
вул. Фраунберг 18, 35039
м. Марбург, Німеччина
Тел: +49(0)64 21/170 00
Факс: +49(0)64 21/17 00 50
www.drq-diagnostics.de
e-mail: drq@drq-diagnostics.de



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

