

НАБІР РЕАГЕНТІВ

BRUCELLA IgA ELISA

Brucella IgA ELISA

Каталог. №: **EIA-3271** Дата випуску інструкції: **03-2019**
Кількість: **96** Версія: **5.0**



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

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Ферментний імуноаналіз (мікротитрові стрипи) для кількісного та якісного визначення IgA антитіл до Brucella у людській сироватці та плазмі.

2. КОРОТКИЙ ОПИС ТА ПОЯСНЕННЯ

Бруцельоз - це інфекційне захворювання, викликане дрібними еліпсоїдними, грам-негативними бактеріями. Є чотири різних мікроби: *Br. abortus*, *Br. melitensis*, *Br. suis* і *Br. canis*. Люди інфікуються через контакт з інфікованими тваринами або шляхом вживання м'яса або непастеризованого молока від інфікованих тварин. Інфіковані люди не є заразними. Інкубаційний період може тривати від одного до трьох тижнів, в деяких випадках - через два місяці. *Br. abortus* і *Br. melitensis* викликають хворобу Банга, і деколи Мальтійську лихоманку. Типовими симптомами хвороби Банга є періодична лихоманка, спленомегалія і набряк лімфатичних вузлів. У деяких випадках виникає запалення різних суглобів і органів. Мальтійська лихоманка виникає внаслідок епідемічного типу бруцельозу. Інфекція майже завжди призводить до явної хвороби. Brucella також може викликати гепатит Brucella. Крім того, можливо, що існує зв'язок між інфекцією бруцелли і спалахом розсіяного склерозу.

Під час антибіотикотерапії або хронічної інфекції виявлення *Brucella spec.* в крові, сечі, спинномозковій рідині, мокроті або інших рідинах тіла можуть бути негативними. Серологічні методи, такі як аглютинація, реакція фіксації комплементу, тест Brucella Coombs і ELISA є хорошими альтернативами. Для моніторингу за станом інфекції антитіла можуть служити звичайним показником. В перші дні IgM є єдиним імуноглобуліном, що з'являється. По мірі прогресування захворювання IgM кількісно відступає, а IgG переважає. При хронічному бруцельозі IgG може вироблятися протягом тривалого періоду часу.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Твердофазний імуоферментний аналіз (ELISA) побудований на основі сендвіч-принципу. Лунки покриті антигеном. Специфічні антитіла зразка, що зв'язуються з лунками, покритими антигеном, виявляються вторинним кон'югованим антитілом (E-Ab), специфічним до людського IgA. Після реакції субстрату інтенсивність утвореного кольору пропорційна кількості виявлених IgA-специфічних антитіл. Результати зразків можуть бути визначені безпосередньо з використанням стандартної кривої.

4. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Для діагностики *in vitro*. Для професійного використання.
- Перед початком аналізу, повністю та уважно ознайомтесь з інструкцією. Використовуйте дійсну версію інструкції з використання, яка постачається у наборі. Переконайтесь, що все зрозуміло.
- У випадку серйозного пошкодження упаковки набору, будь ласка, зверніться до постачальника у письмовій формі, не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти в тестових прогонах, але зберігайте для подачі скарг.
- Дотримуйтесь номеру партії та терміну придатності. Не змішуйте реагенти різних лотів. Не використовуйте реагенти з простроченим терміном дії.
- Дотримуйтеся хорошої лабораторної практики та правил безпеки. Одягайте лабораторні халати, одноразові латексні рукавиці та захисні окуляри, де це необхідно.
- Реагенти цього набору містять небезпечний матеріал, який може спричинити подразнення очей або шкіри. Див. МАТЕРІАЛИ, ЯКІ ПОСТАЧАЮТЬСЯ та етикетки. Інформаційний лист з техніки безпеки для цього продукту доступні за запитом.
- Хімічні речовини та готові або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національних правил біологічної безпеки.

- Прибиральники повинні керуватися професіоналами щодо потенційних небезпек та обробки.
- Уникайте контакту зі Стоп розчином. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.
- Деякі реагенти містять азид натрію (NaN₃) в якості консервантів. У випадку попадання в очі або на шкіру, негайно промийте водою. NaN₃ може реагувати з свинцевим та мідним водопроводом, утворюючи вибухонебезпечні азиди металів. Утилізуючи реагенти, промийте їх великою кількістю води, щоб уникнути накопичення азиду.
- Всі реагенти цього набору, які містять людську сироватку або плазму були протестовані та виявилися негативними до анти-VІІ 1/2, HbsAg та анти-HCV. Однак присутність цих або інших інфекційних агентів не може бути виключена абсолютно. З цієї причини реагенти слід розглядати як потенційні біологічні небезпеки під час використання та утилізації.

5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Комплект транспортується при температурі навколишнього середовища і повинен зберігатися при температурі від 2 °C до 8 °C. Тримайте подалі від тепла або прямих сонячних променів. Зберігання і стабільність зразків і приготування реагентів описано у відповідних розділах.

Невідкриті реагенти стабільні до вказаного терміну придатності. Набір стабільний до 3 місяців після першого відкриття, коли мікропланшет упакований в щільно закритий мішок, пляшки закриваються за допомогою кришок, а набір зберігається при температурі від 2 °C до 8 °C.

6. ЗАБІР ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКА

Сироватка, плазма (ЕДТА, Гепаринова)

Слід дотримуватися звичайних запобіжних заходів щодо венепункції. Важливо зберегти хімічну цілісність зразка крові з моменту його забору до його аналізу. Не використовуйте сильно гемолітичні, іктеричні або сильно ліпемічні зразки. Мутні зразки потрібно центрифугувати перед тестуванням, щоб видалити будь-який сипучий матеріал.

Зберігання:	2°C - 8°C	-20°C	Тримати подалі від тепла та прямого сонячного світла.
Стабільність:	7 днів	>7 днів	Уникати повторних циклів замороження-розмороження.

7. МАТЕРІАЛИ, ЯКІ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

К-сть	Символ	Компонент
1 x 12 x 8	MTP	Мікротитровий планшет Відривні стрипи. Покриті специфічним антигеном.
1 x 15 мл	ENZCONJ IgA	Ферментний кон'югат IgA Червоного кольору. Готовий до використання. Містить: анти-людський IgA, кон'югований до пероксидази (кролик), буфер, який містить протеїн, 0.01 % Метилізотіазоліон, 0.01% бромонітродіоксан та 5 мг/л ProClin.
1 x 4 x 2 мл	CAL A-D	Стандарт A-D 1; 10; 50; 200 О/мл. Готовий до використання. Стандарт A = негативний контроль Стандарт B = Cut-off контроль Стандарт C = Слабо позитивний контроль Стандарт D = позитивний контроль Містить людську сироватку з IgA антитілами до Brucella, PBS, 0.01% Метилізотіазоліон та 0.01% Бромонітродіоксан.
1 x 60 мл	DILBUF	Буфер для розріджування Готовий до використання. Містить: PBS буфер, BSA, <0.1% NaN ₃ .
1 x 60 мл	WASHBUF CONC	Промивний буфер, концентрат (10x) Містить: PBS буфер, Tween 20.
1 x 15 мл	TMB SUBS	Розчин субстрату ТМБ Готовий до використання. Містить: ТМБ.
1 x 15 мл	TMB STOP	Стоп розчин ТМБ Готовий до використання. 0.5 M H ₂ SO ₄ .
2 x	FOIL	Клейка фольга Для накривання мікротитрового планшету під час інкубації.
1 x	BAG	Пластиковий пакет Відновлюється. Для сухого зберігання невикористаних стрипів.

8. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або схожі пристрої, <3% KB). Об'єми: 5; 50; 100; 500 мкл
2. Калібрувальні міри
3. Пробірки (1 мл) для розведення зразка
4. 8-каналний Мікропіпеттор з резервуарами для реагентів
5. Промивна пляшка, автоматична або напівавтоматична система промивання мікропланшетів
6. Мікротитровий планшетний рідер, який здатний зчитувати абсорбцію при 450 нм (референтна довжина хвилі 600-650 нм)
7. Бідистильована або деіонізована вода
8. Паперові рушники, наконечники для піпеток та таймер

9. ПРИМІТКИ ЩОДО ПРОЦЕДУРИ

1. Будь-яке неправильне поводження зі зразками або модифікація процедури тестування можуть вплинути на результати. Вказані об'єми піпетування, час інкубації, температури та етапи попередньої обробки повинні виконуватися строго відповідно до інструкцій. Використовуйте тільки калібрувальні піпетки та пристрої.
2. Після початку тестування всі етапи потрібно завершити без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої готові у відповідний час. Дозвольте всім реагентам і зразкам досягнути кімнатної температури (18 °C - 25 °C) і обережно закрутіть кожний флакон з рідким реагентом і зразком перед використанням. Змішайте реагенти без спінювання.
3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток та лунок/пробірок. Використовуйте нові одноразові пластикові наконечники для піпеток для кожного компоненту та зразка. Не змінюйте кришки. Завжди закривайте не використовувані флакони. Не використовуйте повторно лунки / трубки або реагенти.
4. Використовуйте схему піпетування, щоб перевірити відповідне розташування пластин.
5. Час інкубації впливає на результати. Всі лунки потрібно обробляти в тому самому порядку і в тій самій послідовності. Рекомендується використовувати 8-каналний Мікропіпеттор для піпетування розчинів у всі лунки.
6. Промивання мікротитрового планшета є дуже важливим. Неправильно помиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати мультиканальну піпетку або промивну систему автоматичного мікротитрового планшета. Не дозволяйте лункам висихати між інкубаціями. Не подряпайте лунки під час полоскання та аспірації. Промити та наповнити всі реактиви обережно. Під час полоскання перевірте, щоб всі лунки були заповнені точно буфером для промивання, і що в лунках не було залишків.
7. Вологість впливає на накріті лунки/пробірки. Не відкривайте упаковку поки вона не досягне кімнатної температури. Не використані лунки/пробірки потрібно поставити назад в упаковку разом з осушувачем.

10. ІНСТРУКЦІЇ ЩОДО НАЛАШТУВАННЯ ДО ПОЧАТКУ ТЕСТУВАННЯ

○ Підготовка компонентів



Вміст набору для 96 визначень можна розділити на 3 окремих запуски. Об'єми вказані нижче, є тільки для одного запуску з 4 стріпами (32 визначення).

Dilute / dissolve	Component	Diluent	Relation	Remarks	Storage	Stability
20 mL	WASHBUF CONC	180 mL bidist. water	1:10	Warm up at 37 °C to dissolve crystals, if necessary. Mix vigorously.	2 °C - 8 °C	8 weeks

○ Розведення зразків

Sample	to be diluted	with	Relation	Remarks
Serum / Plasma	generally	DILBUF	1:101	e.g. 5 µL + 500 µL DILBUF

Зразки з концентраціями вищими ніж найвищий стандарт, потрібно розводити.

11. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

1. Піпетуйте **100 мкл** кожного **стандарту та розведеного зразка** у відповідні лунки Мікротитрового планшета.
2. Накрийте планшет з клейкою фольгою. Інкубуйте 60 хв при 18°C - 25°C.
3. Зніміть клейку фольгу. Утилізуйте інкубаційний розчин. Промийте планшет **3 х з 300 мкл розведеного Промивного буфера**. Видаліть надлишок розчину, постукаючи планшетом об паперовий рушник.
4. Піпетуйте **100 мкл ферментного кон'югату** у кожну лунку.
5. Накрийте планшет новою клейкою фольгою. **Інкубуйте 30 хв** при температурі **18 °C - 25°C**.

6. Зніміть клейку фольгу. Утилізуйте інкубаційний розчин. Промийте планшет **3 х з 300 мкл розведеного Промивного буфера**. Видаліть надлишок розчину, постукаючи планшетом об паперовий рушник.
7. Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо є, 8-каналний Мікропіпеттор. Піпетування слід проводити в ті ж самі часові інтервали для субстрату та стоп-розчину. Використовуйте позитивне переміщення і уникайте утворення повітряних бульбашок.
8. Піпетуйте **100 мкл Розчину субстрату ТМБ** у кожну лунку.
9. Інкубуйте 20 хв при температурі 18°C -25°C у темному місці (без клейкої фольги).
10. Зупиніть реакцію субстрату, додавши **100 мкл стоп розчину ТМБ** у кожну лунку. Коротко змішайте вміст, обережно струшуючи пластину. Колір змінюється з синього на жовтий.
11. **Виміряйте** оптичну щільність за допомогою фотометра при **450 нм** (референтна довжина хвилі: 600-650 нм) протягом 60 хв після піпетування Стоп розчину.

12 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати випробувань є дійсними лише в тому випадку, якщо тестування було виконано відповідно до інструкцій. Більш того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (Good Laboratory Practice) або відповідних стандартів/законів. Користувач та / або лабораторія повинні мати підтвержену систему для отримання діагнозу відповідно до GLP. Всі стандарти / контролю повинні бути знайдені в межах допустимих діапазонів, як зазначено у сертифікаті КЯ. Якщо критерії не дотримано, виконання не є дійсним і потрібно повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки для подальшого контролю. Рекомендується брати участь у відповідних випробуваннях з оцінки якості.

У разі будь-яких відхилень необхідно довести наступні технічні питання: терміни придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, пристрої, умови інкубації та методи промивання.

13 ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Оцінку тесту можна проводити як кількісно так і якісно.

○ Якісне оцінювання

Значення Cut-off задається оптичною густиною (ОГ) стандарту В (стандарт cut-off). Індекс cut-off (COI) обчислюється з середньої оптичної щільності зразка та значення cut-off. Якщо оптична щільність зразка знаходиться в діапазоні 20% навколо значення cut-off (сіра зона), зразок повинен розглядатися як граничний. Зразки з більш високими ОГ є позитивними, зразки з меншими ОГ є негативними.

Для кількісного визначення, індекс cut-off (COI) зразків може бути сформований наступним чином:

$$COI = \frac{OD \text{ Sample}}{OD \text{ Standard B}}$$

13.1 Кількісне оцінювання

Отримані ОГ стандартів (вісь - y, лінійні) наносять на графік відповідно до їх концентрації (вісь - x, логарифмічна) або на напів-логарифмічному графічному папері, або за допомогою автоматизованого способу. Хороший фіт забезпечується кубічним спліном або кривою "точка до точки", оскільки ці методи дають найвищу точність при обчисленні даних. Для розрахунку стандартної кривої застосовується кожен сигнал стандартів (один очевидний викид дублікатів може бути опущений, і більш вірогідне єдине значення може бути використано).

Концентрацію зразків можна зчитати прямо зі стандартної кривої.

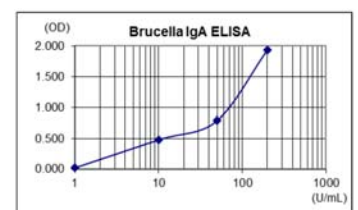
Початкове розведення було враховане при читанні результатів з графіка. Результати зразків більш високого розведення потрібно помножити на коефіцієнт розведення.

Зразки, що показують концентрації вище найвищого стандарту, повинні бути розведені, як описано в ІНСТРУКЦІЇ З ПОПЕРЕДНЬОГО ВСТАНОВЛЕННЯ та повторно проаналізувати.

Типова калібрувальна крива

(Приклад. Не використовувати для обчислення!)

Стандарт	О/мл	ОГ _{середнє}
A	1	0.022
B	10	0.479
C	50	0.789
D	200	1.936



ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Метод	Діапазон	Інтерпретація
Кількісний (Стандартна крива)	< 8 О/мл	негативний
	8 – 12 О/мл	двозначний
	>12 Од/мл	позитивний
Якісний (Індекс cut-off, COI)	< 0.8	негативний
	0.8 – 1.2	двозначний
	>1.2	позитивний

Самі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні корелювати з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У внутрішньому дослідженні, очевидно, здорові суб'єкти показали наступні результати:

Ig Isotype	к-сть	Інтерпретація		
		позитивна	двозначна	негативна
IgA	88	1.1%	3.4%	95.5%

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Збір та зберігання зразків мають значний вплив на результати тестування. Докладніше див. ЗАБІР ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ.

Азид і тімерозал при концентраціях > 0,1% втручаються в цей аналіз і можуть призводити до помилкових результатів.

Наступні компоненти крові не мають значного впливу (+/- 20% очікуваних) на результати тесту до зазначених нижче концентрацій:

Гемоглобін	8.0 мг/мл
Білірубін	0.3 мг/мл
Тригліцериди	5.0 мг/мл

14. ПРОДУКТИВНІСТЬ

Точність в межах аналізу	9,3%
Точність між аналізами	8,4%
Точність між лотами	4,4 – 10,5%
Аналітична чутливість	1,14 О/мл
Відновлення	92 – 114%
Лінійність	69 – 110%
Перехресна реактивність	Відсутня перехресна реакція до: Bordetella pertussis
Клінічна специфічність	100%
Клінічна чутливість	100%



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.drg-diagnostics.de
e-mail: [drq@drq-diagnostics.de](mailto:drg@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

