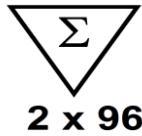


Інструкція з використання

Токсоплазма IgM ІФА

Каталожний No. E-TXM-K19

RUO тільки для досліджень



и захоплення ІФА



RD-RatioDiagnostics	Phone: + 49 (0) 69 / 7807 4942
Westerbachstraße 47	Fax: + 49 (0) 69 / 7807 4998
60489 Frankfurt	Email: info@rd-labs.com
Німеччина	www.RD-LABS.com

Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18,

info@novamedline.com, www.novamedline.com

ПЕРЕДБАЧУВАНЕ ВИКОРИСТАННЯ

RD-RatioDiagnostics E-TXM-K19 Токсоплазма IgM Elisa - це набір імуноферментного аналізу, що забезпечує матеріал для виявлення антитіл класу IgM до Токсоплазма гонді в сироватці або плазмі людини. Цей аналіз призначений лише для використання in vitro.

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ТА ПОЯСНЕННЯ

Токсоплазмоз спричинений зараженням внутрішньоклітинним найпростішим паразитом Токсоплазма гонді. Одна з форм хвороби, вроджений набутий токсоплазмоз, може призвести до важких вад розвитку центральної нервової системи або перинатальної смертності. Інші форми захворювання варіюються від хронічної, безсимптомної інфекції токсоплазмою до очної інфекції та поширеного церебрального токсоплазмозу у дорослих. Токсоплазмоз може бути важким у осіб з імунодефіцитами та новонароджених, інфікованих внутрішньоутробно. Особи, які проходять імуносупресивну терапію, та особи з імунологічними розладами мають значний ризик зараження важким токсоплазмозом, який може призвести до летального результату.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Тест на токсоплазму IgM заснований на принципі захоплення цих імуноглобулінів та подальшої ідентифікації тих, які є специфічними, використовуючи їх здатність зв'язувати антиген, кон'югований з пероксидазою. Захоплення проводиться за допомогою моноклональних антитіл, пов'язаних з твердою фазою (стріпи мікропланшети). Антиген складається з очищеного та інактивованого антигену Токсоплазма гонді.

РЕАГЕНТИ

Набір RD-RatioDiagnostics Токсоплазма Гонді IgM ELISA містить достатню кількість реагенту для 96 лунок. Кожен набір містить такі реактиви:

Матеріали надані	кількість	Каталожний номер
Стріпи мікропланшету, покриті анти-людськими антитілами IgM	Один планшет	E-ABM-10
Промивний концентрат	Один флакон	E-WSL-30
Розчинник зразку	Одна пляшка	E-DLB-40
ТМБ-Субстрат	ТМБ субстрат	E-TMB-08
Негативний контроль	Одна пляшка	E-TXM-01
Пороговий контроль	Один флакон	E-TXM-02
Позитивний контроль	Один флакон	E-TXM-03
Кон'югат токсоплазми-HRP	Одна пляшка	E-TXM-20u
СТОП розчин	Одна пляшка	E-STP-09

МАТЕРІАЛИ НЕ НАДАНІ

- Рідер мікропланшетів, здатний вимірювати поглинання при 450 нм
- Дейонізована / дистильована вода
- Точна піпетка для подачі 10 мкл, 100 мкл і 1 мл
- Напіваавтоматична піпетка для подачі 100 мкл
- Автоматична шайба для мікропланшета
- Абсорбуючі матеріали для промокання стріпів
- Інкубатор

НАДАНІ МАТЕРІАЛИ:**Стріпи мікропланшета, покриті антитілами:**

Один смуготримач, що містить 12x8 (96) лунок мікропланшету, покритих антилюдськими антитілами IgM людини. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності. Вийміть опору та стріпи, які будуть використовуватися, з упаковки з фольги та покладіть невикористані стріпи в поліетиленовий пакет з силікагелем, видаліть повітря та ущільніть, натиснувши на замок. Після відкриття продукт стабільний протягом 4 тижнів при температурі 2-8 ° С.

Концентрат для промивання:

Одна пляшка, 100 мл, що містить сольовий розчин, забуферений фосфатом, концентрований 10-кратний, що містить 0,5 об. Перед використанням розбавити деіонізованою / дистильованою водою. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

Розчинник зразку:

Одна пляшка, 100 мл, що містить розчин BSA з 0,09% азидом натрію в якості консерванту. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності. Контроль за токсоплазмою IgM: Три флакони, негативні, порогові та позитивні, кожен по 2 мл сироватки людини в 0,01 М фосфатному буфері з BSA, що містить 0,09% азиду натрію як консервант. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

Контроль за токсоплазмою IgM:

Три флакони, негативний, пороговий та позитивний, кожен по 2 мл сироватки людини в 0,01 М фосфатному буфері з BSA, що містить 0,09% азиду натрію як консервант. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

Токсоплазма-HRP- Кон'югат:

Одна пляшка, 12 мл, що містить очищений антиген токсоплазми, кон'югований з пероксидазою, у фосфатному буферному розчині з 0,02% прокліну. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

ТМБ-субстрат:

Одна пляшка, 12 мл, що містить тетраметилбензидин (ТМБ) і перекис водню, стабілізовані в цитратному буфері, рН 3,8. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

Стоп розчин:

Одна пляшка, 15 мл, що містить 0,3 МН₂SO₄ у розчині. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Для використання in vitro

Слід дотримуватися таких універсальних належних лабораторних практик: не їжте, не пийте, не паліть і не застосовуйте косметику там, де обробляють імунодіагностичний матеріал. Не піпетувати через рот. Одягайте лабораторні халати та одноразові рукавички під час роботи з імунодіагностичним матеріалом. Після цього ретельно вимийте руки. Закрийте робочу зону одноразовим абсорбуючим папером. Негайно витріть розлиті плями та знезаражте уражені поверхні. Уникайте утворення аерозолів. Забезпечити достатню вентиляцію. Обробляйте та утилізуйте всі реагенти та матеріали відповідно до чинних норм.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ: ПОТЕНЦІАЛЬНИЙ БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ

Цей набір може містити деякі реагенти, виготовлені з матеріалом людського та тваринного походження (наприклад, сироваткою, плазмою або бичачим альбуміном) або використовуються разом із матеріалом людського та тваринного походження. Матеріал у цьому наборі був протестований методами, позначеними СЕ, і виявлено, що він не реагує на антитіла до ВІЛ-1/2, HCV та HbsAg; у матеріалі немає даних про зараження тваринами. Жоден доступний метод випробувань не може дати повних гарантій усунення потенційного ризику для біологічної безпеки. Обробляйте всі реагенти та зразки пацієнтів на рівні Біобезпеки 2, як рекомендується для будь-якого потенційно інфекційного людського матеріалу в Центрах контролю за захворюваннями / Посібник Національного інституту охорони здоров'я "Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях", 4-е видання, квітень 1999

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ:

Деякі реагенти цього набору містять азид натрію як консервант у концентраціях нижче нормативної межі <0,1%. Концентрований азид натрію, хоча і значно розбавлений, подразнює шкіру та слизові оболонки і може реагувати зі свинцевим та мідним водопроводом, утворюючи вибухонебезпечні азиди металів, особливо якщо накопичуються. Крім того, ТМБ та сірчана кислота у концентрованих кількостях також подразнюють шкіру та слизові оболонки. Ці речовини знаходяться у розведеному вигляді, і тому можуть значно мінімізувати ризики впливу, але не повністю. Забезпечити достатню вентиляцію. Уникайте контакту зі шкірою, очима та одягом. У разі контакту з будь-яким із цих реагентів ретельно промити водою та звернутися до лікаря. Утилізуйте всі небезпечні реагенти, промиваючи великими обсягами води, щоб запобігти накопиченню хімічної небезпеки в сантехнічній системі. Зразок розчинника та контролю містять розведений BSA. Для отримання додаткової інформації щодо небезпечних речовин у наборі, будь-ласка, зверніться до специфічних паспортів безпеки (SDSDS) за запитом.

ЗБІР ЗРАЗКІВ І ОБРОБКА

Слід використовувати сироватку та дотримуватися звичайних запобіжних заходів щодо венепункції. Зразки можна зберігати при 2-8 ° С протягом 2 днів. Триваліше зберігати при –20 ° С. Не використовуйте гемолізовані або ліпемічні зразки. Уникайте повторного заморожування та розморожування зразків.

ПІДГОТОВКА ДО АНАЛІЗУ

Для успішного використання продукту необхідне глибоке розуміння цієї інструкції. Надійні результати будуть отримані лише за допомогою точних лабораторних методів та точно слідуєчи вкладеній в упаковку інструкції. Перед використанням доведіть усі реактиви та зразки до кімнатної температури (~ 25 ° С). Ретельно перемішайте реактиви та зразки перед використанням обережною інверсією. Не змішуйте різні партії будь-яких компонентів набору в рамках окремого аналізу. Не використовуйте жодних компонентів після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Неповне миття негативно вплине на результат та точність аналізу. Щоб мінімізувати потенційний дрейф аналізу через зміну часу інкубації субстрату, слід подбати про додавання стоп розчину в лунки в тому ж порядку та за швидкістю для додавання розчину хромогену ТМБ. Уникайте мікробного забруднення реактивів, особливо кон'югату, промивного буфера та розріджувача. Уникайте забруднення розчину хромогену ТМБ кон'югатом. Для кожного реактиву використовуйте чистий одноразовий наконечник піпетки. Уникайте піпеток з металевими деталями. Ємності та напівавтоматичні наконечники для піпеток, що використовуються для кон'югату та ТМБ, можуть бути використані повторно за умови, що вони ретельно промиті деіонізованою / дистильованою водою та висушені до та після кожного використання. Фермент, що використовується як етикетка, інактивується киснем і є дуже чутливим до мікробного забруднення, азиду натрію, хлористоводневої кислоти та ароматичних хлорвуглеводнів, які часто містяться в лабораторних запасах води. Використовуйте високоякісну воду. Уникайте впливу реактивів надмірним теплом або сонячним світлом під час зберігання та інкубації.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ:

Промивний розчин:

Перед використанням розбавте 1:10 деіонізованою / дистильованою водою. Якщо присутні кристали, їх слід розчинити при температурі 37 ° С перед розведенням. Налийте 100 мл промивного концентрату в чисту ємність і розведіть, додавши 900 мл деіонізованої / дистильованої води. Ретельно перемішати шляхом інверсії. Промивний розчин стабільний протягом 5 днів при кімнатній температурі та 2 тижні при 2-8 ° С при зберіганні в щільно закупореній пляшці.

Стріпи мікропланшету:

Виберіть кількість смужок з покриттям, необхідних для аналізу. Залишилися невикористані лунки слід помістити в пакет, що закривається, з осушувачем. Пакет потрібно закрити повторно, щоб захистити від вологи. Процедура аналізу: Усі зразки та реактиви перед використанням повинні досягти кімнатної температури (~25 ° С). Зразки сироватки та контролю слід аналізувати у двох примірниках.

1. Позначте стріпи мікропланету, які слід використовувати.
2. Розведіть зразки сироватки 1: 101, розподіливши 10 мкл сироватки в 1 мл розчинника для зразків.
3. Відкачайте піпеткою по 100 мкл кожного розведеного зразка сироватки та готових до використання контролів у відповідні лунки.
4. Інкубуйте протягом 45 хвилин при 37 ° С.

5. Аспіруйте і промивайте кожну лунку чотири (4) рази протягом 30 секунд промивним розчином за допомогою автоматичного вошера для мікропланшетів або вручну за допомогою дозатора. Протріть і висушіть, перевернувши планшет на абсорбуючий матеріал.

ПРИМІТКА: Настійно рекомендується використовувати автоматичний вошер для мікропланшетів. Неповне миття негативно вплине на точність аналізу. Якщо пристрій для промивання мікропланшетів відсутній,

(a) повністю аспіруйте рідину з кожної лунки,

(b) додавайте 300 мкл промивного розчину в кожну лунку;

(c) повторити кроки (a) та (b) чотири рази.

6. Додайте 100 мкл кон'югату Тохо-HRP у кожну лунку.

7. Інкубуйте протягом 45 хвилин при 37 ° С.

8. Аспіруйте та промивайте кожну лунку чотири рази протягом 30 секунд промивним розчином за допомогою автоматичного вошера для мікропланшетів або вручну за допомогою дозатора. Протріть і висушіть, перевернувши планшет на абсорбуючий матеріал.

9. Додайте 100 мкл розчину хромогену ТМБ у кожну лунку за допомогою дозатора.

10. Інкубуйте 15 хвилин при кімнатній температурі. Уникайте потрапляння прямих сонячних променів.

11. Додайте 100 мкл стоп розчину в кожну лунку за допомогою дозатора.

12. Прочитайте поглинання розчину в лунках протягом 30 хвилин, використовуючи рідер мікропланшетів, встановлений на 450 нм. Якщо довжина хвилі доступна корекція, встановіть прилад на подвійне вимірювання довжини хвилі на 450 нм з фоновою корекцією довжини хвилі встановлено на 600 або 620 нм.

РЕЗУЛЬТАТИ

Обчисліть середню абсорбцію для кожного контролю та невідомих.

Якісні результати:

Якщо поглинання зразка вище, ніж поглинання порогове, зразок позитивний на наявність специфічного IgM. Обчисліть співвідношення між середнім значенням ОГ для зразка та значенням граничного значення.

Зразок розглядається:

Позитивний: якщо коефіцієнт > 1,1.

Сумнівний: якщо +/- 10% від граничного значення.

Негативний: якщо коефіцієнт < 0,9. Якщо результат сумнівний, повторіть тест.

Якщо це залишається сумнівним, візьміть новий зразок сироватки.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- Зразок сироватки, отриманий під час пізньої фази зараження, коли присутні лише антитіла IgG, може бути негативним за цією процедурою.
- Результати тесту слід використовувати разом із інформацією, отриманою в результаті оцінки інших клінічних та діагностичних процедур.
- Уникайте повторного заморожування та розморожування реагентів та зразків.
- Слід уникати грубо гемолізованих, жовтяничних або ліпемічних зразків.
- Слід уникати нагрівання інактивованих сироваток.

- Серологічні дані пацієнтів із ослабленим імунітетом та новонароджених дітей мають обмежене значення.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ .

Значення ОГ для порогового контролю повинні бути не менше 0,2.

Позитивний контроль повинен мати ОГ принаймні в 1,5 рази більше, ніж пороговий контроль

- Зразок сироватки, отриманий під час пізньої фази зараження, коли присутні лише антитіла IgG, може бути негативним за цією процедурою.
- Результати тесту слід використовувати разом із інформацією, отриманою в результаті оцінки інших клінічних та діагностичних процедур.
- Уникайте повторного заморожування та розморожування реагентів та зразків.
- Слід уникати грубо гемолізованих, жовтяничних або ліпемічних зразків.
- Слід уникати нагрівання інактивованих сироваток.
- Серологічні дані пацієнтів із ослабленим імунітетом та новонароджених дітей обмежені

Таб.1

Порівняння аналізу	<i>RD-RatioDiagnostics</i>		
	позитивний	негативний	граничний
Тест А			
позитивний	22	0	0
негативний	0	150	0
граничний	0	0	0

2. Точність

Таблиця 2

В аналізі			
Кількість повторів	Сироватка 1	Сироватка 2	Сироватка 3
середнє	0,017	0,64	2,4
СВ	0,004	0,02	0,06
CV%	23	2,5	2,4

Таблиця 3

Між аналізами			
Кількість повторів	Сироватка 1	Сироватка 2	Сироватка 3
середнє	0,17	1,01	0,47
СВ	0,004	0,02	0,02
CV%	2,1	2,2	3,3

3. Вплив

Вплив ліпемічних, гемолітичних або жовтяничних сироваток не спостерігаються до концентрації 5 мг / мл гемоглобіну, 5 мг / мл тригліцеридів та 0,2 мг / мл білірубину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Husskinson, P. Stepick-Biek et al.: Toxoplasma antigens recognized by immunoglobulin G subclass during acute and chronic infection. *J. Clin. Microbiol.* 27: 2031 (1989).
2. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. *Clin. Chem.* 22: 1243 (1976).
3. A.M. Van Loon and J. Van der Veen: Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. *J. Clin. Pathol.* 33: 635 (1980).
4. L. Schaefer, J. Dyke et al. Evaluation of microparticle enzyme immunoassays for immunoglobulins G and M to Rubella virus and Toxoplasma gondii on the Abbott IMx automated analyzer. *J. Clin. Microbiol.* 27: 2410 (1989).