



**ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ НАБОРУ  
РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО  
ВИЗНАЧЕННЯ ГАЛАКТОМАНАНОВОГО  
АНТИГЕНУ *ASPERGILLUS* В СИРОВАТЦІ  
КРОВІ ТА БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОМУ  
ЛАВАЖІ**

**«GalMAg-ІФА»**

НОМЕР ЗА КАТАЛОГОМ REF **K021**

ТУ У 24.4-36038442-001:2011



На 96 визначень



Для ін вітро діагностики



ТОВ «ХЕМА» 03179 м.Київ, а/с 49  
вул. Академіка Єфремова, 23  
+38 (044) 422-62-16  
info@xema.com.ua  
www.xema-medica.com

Система управління якістю:





**ЗМІСТ**

1. ПРИЗНАЧЕННЯ	2
2. ПРИНЦИП РОБОТИ НАБОРУ	3
3. СКЛАД НАБОРУ	4
4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	5
5. ОБЛАДНАННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ПІД ЧАС РОБОТИ З НАБОРОМ	5
6. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ	5
7. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ	6
8. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ	7
9. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ	8
10. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	8

# ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ НАБОРУ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГАЛАКТОМАНАНОВОГО АНТИГЕНУ *ASPERGILLUS* В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОМУ ЛАВАЖІ «GalMAg-ІФА»

## 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

**1.1.** Набір реагентів «GalMAg-ІФА» призначений для визначення специфічного антигену (галактоманану) цвільового гриба роду *Aspergillus* в сироватці крові та бронхоальвеолярному лаважі (БАЛ) людини методом твердофазного імуноферментного аналізу.

**1.2.** Тест «GalMAg-ІФА» в поєднанні з іншими діагностичними процедурами, зокрема мікробіологічним та гістологічним дослідженнями біоптатів, а також радіографічними даними, може використовуватись для діагностики інвазивного аспергілозу.

**1.3.** Інфекції, які викликані грибами роду *Aspergillus*, зазвичай, починаються з легень після потрапляння спор, що розповсюджуються повітрям. Інвазивні форми є найбільш складними випадками і спостерігаються переважно при нейтропенії, яка викликана хіміотерапією пухлин, а також у пацієнтів, яким були призначені імунодепресанти (трансплантація органів, зокрема, трансплантація кісткового мозку) та кортикостероїди.

**1.4.** Культивування зразків крові на селективних середовищах рідко призводить до виявлення *Aspergillus* навіть у пацієнтів з явними ознаками аспергілозу. Діагностика базується на неспецифічних діагностичних або радіологічних даних (клінічні симптоми, комп'ютерна томографія, рентгенографія грудної клітини та ін.).

**1.5.** Тест «GalMAg-ІФА» на розчинний антиген галактоманан в сироватці є імунохімічним методом, що здатний допомогти в діагностиці інвазивного аспергілозу.

## 2. ПРИНЦИП РОБОТИ НАБОРУ

Визначення галактоманану ґрунтується на використанні «сендвіч»-варіанта твердофазного імуноферментного аналізу. На внутрішній поверхні лунок планшета іммобілізовані мишачі моноклональні антитіла проти ГМ. Зразки сироватки або БАЛ підлягають термообробці в присутності етилендіамінтетраацетату (ЕДТА) для дисоціації імунних комплексів та для осадження білків, які заважають тестуванню.

У лунках планшета при додаванні досліджуваного зразка відбувається зв'язування антигену, який міститься у досліджуваному зразку, з антитілами на твердій фазі. Комплекс, що утворився, виявляють за допомогою суміші кон'югату мишачих моноклональних антитіл проти ГМ з біотином та кон'югату стрептавідину з пероксидазою хрину. У результаті утворюється зв'язаний із твердою фазою комплекс, що містить пероксидазу. Під час інкубації з розчином субстрату тетраметилбензидину (ТМБ) рідина у лунках забарвлюється. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації ГМ в досліджуваному зразку.

### 3. СКЛАД НАБОРУ

	Код компонента	Символ	Найменування	К-ть	Од.	Опис
1	P021Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-лунковий, полістироловий, стрипований, готовий для використання	1	шт.	-
2	CN021Z CP021Z CP021Z-2	CONTROL- CONTROL Cut-off CONTROL+	<b>Контрольні сироватки</b> на основі сироватки крові людини, що містять відомі кількості галактоманану <i>Aspergillus</i> - 0; 0,7; 2,1 нг/мл, готові до використання (по 3,4 мл кожна)	3	шт.	прозорі рідини світло-жовтого кольору
3	SP021Z	DIL SPE	<b>Буфер для розведення зразків</b> , готовий до використання (13 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
4	T021Z	CONJ HRP	<b>Кон'югат Стрептавідин-ПХ</b> , готовий до використання (3,5 мл)	1	шт.	прозора рідина червоного кольору
5	B021Z	CONJ BIOTIN	<b>Біотинільовані моноклональні антитіла</b> проти галактоманану <i>Aspergillus</i> , готові до використання (3,5 мл)	1	шт.	прозора рідина синього кольору
6	S008Z	BUFWASH 26X	<b>Концентрат розчину для відмивання</b> , 26х-кратний (22 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
7	R055Z	SUBS TMB	<b>Розчин субстрату тетраметилбензидину (ТМБ)</b> , готовий до використання (14 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
8	R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готовий для використання (7 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
9	N003	-	Плівка для заклеювання планшета	2	шт.	-
10	K021I	-	Інструкція з використання Набору реагентів «GalMAg-ІФА»	1	шт.	-
11	K021Q	-	Паспорт контролю якості Набору реагентів «GalMAg-ІФА»	1	шт.	-

#### 4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

4.1. Всі компоненти Набору, за винятком стоп-реагенту (5,0% розчин сірчаної кислоти) у концентраціях, що використовуються, є нетоксичними.

Розчин сірчаної кислоти має подразнюючу дію. Необхідно уникати її розбризкування та потрапляння на шкіру і слизові оболонки. При потраплянні на шкіру і слизові оболонки уражену ділянку слід промити великою кількістю проточної води.

4.2. При роботі з Набором слід дотримуватись НПАОП 85.14-1.09-81. Правила влаштування, техніки безпеки, виробничої санітарії, протиепідемічного режиму і особистої гігієни при роботі в лабораторіях (відділеннях, відділах) санітарно-епідеміологічних установ системи Міністерства охорони здоров'я СРСР (НАОП 9.1.50-1.09-81).

4.3. При роботі з Набором слід користуватися одноразовими гумовими або пластиковими рукавичками, оскільки зразки крові людини слід розглядати як потенційно інфікований матеріал, здатний тривалий час зберігати і передавати віруси ВІЛ, гепатиту або будь-який інший збудник вірусної інфекції.

4.4. Не використовуйте Набір з ознаками пошкодження.

4.5. Усі використані одноразові матеріали необхідно обробити дезінфікуючими засобами з подальшою утилізацією (див. ДСанПіН «Державні санітарно-протиепідемічні правила і норми щодо поводження з медичними відходами»).

4.6. Медичні відходи класу Б. Утилізацію чи знищення, дезінфекцію Наборів реагентів слід проводити у відповідності з ДСанПіН «Державні санітарно-протиепідемічні правила і норми щодо поводження з медичними відходами» та ДСанПіН «Дезінфекція, передстерилізаційне очищення та стерилізація медичних виробів в закладах охорони здоров'я»

#### 5. ОБЛАДНАННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ПІД ЧАС РОБОТИ З НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканування, який дозволяє виміряти оптичну густину вмісту лунок планшета при довжині хвилі 450нм;
- термостат, який підтримує температуру  $+37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ;
- струшувач або термошейкер
- дозатори зі змінними наконечниками, які дозволяють відбирати об'єми в діапазоні 25-250мкл;
- циліндр мірний об'ємом 1000 мл;
- вода дистильована;
- рукавички гумові або пластикові;
- папір фільтрувальний;
- водяна баня або тепловий блок;
- центрифуга з прискоренням не менше ніж 10 000 x g (**УВАГА: важливим є саме прискорення, а не кількість обертів ротору на хвилину!**)

#### 6. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ

6.1. Перед проведенням аналізу компоненти Набору та досліджувані зразки сироватки (плазми) крові необхідно витримати при кімнатній температурі ( $+18...+25^{\circ}\text{C}$ ) не менше 30 хвилин.

### 6.2. Приготування планшета.

Відкрити пакет із планшетом і встановити в рамку необхідну кількість стрипів. Стрипи, що залишилися невикористаними, необхідно заклеїти плівкою для заклеювання планшета з метою запобігання впливу вологи на лунки планшета. Планшет зберігати при температурі +2...+8°C протягом терміну придатності Набору.

### 6.3. Приготування розчину для відмивання.

Вміст флакона з концентратом розчину для відмивання (22 мл), перенести в мірний циліндр об'ємом 1000 мл, додати 550 мл дистильованої води та ретельно перемішати. У разі часткового використання Набору слід відібрати необхідну кількість концентрату розчину для відмивання і розвести дистильованою водою в 26 разів (до 1 мл концентрату розчину для відмивання додати 25 мл дистильованої води).

## 7. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

**7.1.** Набір реагентів «GalMag-ІФА» потрібно зберігати в упаковці підприємства-виробника при температурі +2...+8°C протягом усього терміну придатності, який вказаний на пакуванні Набору. Допускається зберігання (транспортування) Набору при температурі до +25°C не довше 15 діб. Не допускається заморожування цілого Набору.

**7.2.** Набір розрахований на проведення аналізу в двох повторах 44 досліджуваних зразків та 3 контрольних сироваток (всього 96 визначень).

**7.3.** У випадку часткового використання Набору компоненти слід зберігати в такий спосіб:

- стрипи, що залишились невикористаними, необхідно ретельно заклеїти плівкою для заклеювання планшета та зберігати при температурі +2...+8°C протягом всього терміну придатності Набору;

- кон'югат, біотинільовані антитіла, контрольні сироватки, субстрат, стоп-реагент, після відкриття флаконів необхідно зберігати при температурі +2...+8°C протягом всього терміну придатності Набору;

- концентрат розчину для відмивання, що залишився невикористаним, необхідно зберігати при температурі +2...+8°C протягом всього терміну придатності Набору;

- готовий розчин для відмивання необхідно зберігати при кімнатній температурі (+18...+25°C) не довше 15 діб або при температурі +2...+8°C не довше 45 діб.

**Важливе зауваження:** після використання реагенту закривайте кришку флакона. Закривайте кожний флакон відповідною кришкою.

**7.4.** Під час використання Набору для проведення декількох незалежних серій аналізів слід мати на увазі, що для кожного незалежного визначення необхідне використання контрольних сироваток.

**7.5.** Не використовуйте компоненти з інших наборів або з аналогічних наборів інших партій.



## 8. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ

### 8.1 Зразки для аналізу.

Кров необхідно відібрати вено-пункцією, дати крові згорнутися, відділити сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Якщо аналіз проводиться не в день забору матеріалу, закриті пробірку зі зразком зберігають при температурі +2...8°C протягом 5 діб. Допускається трикратне розморожування/заморожування зразків при температурі -20°C або нижче. Відкрита пробірка може зберігатися при температурі +4...+8°C протягом 48 годин. Необхідно уникати можливої контамінації зразка при маніпуляціях. Зразки з гемолізом, гіперліпемією та бактеріальним проростом не підлягають дослідженню, а також зразки, що містять азид нарію, в якості консерванта.

### 8.2. Бронхоальвеолярний лаваж людини (БАЛ).

Зразок бронхоальвеолярної лаважної рідини (БАЛ) необхідно зібрати в стерильну пробірку та центрифугувати при 10 000 x g протягом 10 хвилин з наступним аналізом супернатанту. Якщо аналіз проводиться не в день забору матеріалу, закриті пробірку зі зразком зберігають при температурі +2...8°C протягом 5 діб. Допускається трикратне розморожування/заморожування зразків при температурі -20°C або нижче. Відкрита пробірка може зберігатися при температурі +4...+8°C протягом 48 годин. Необхідно уникати можливої контамінації зразка при маніпуляціях.

### 8.3. Підготовка зразків для аналізу.

Контрольні зразки необхідно готувати як зразки для аналізу.

**8.3.1.** В одноразову пробірку типу еппендорф на 1.5 мл додати 300 мкл кожного зразка досліджуваної сироватки, БАЛ, позитивної та негативної сироватки.

**8.3.2.** Додайте в кожну пробірку 100 мкл буфера для розведення зразків (DIL SPE).

**8.3.3.** Ретельно перемішати вміст пробірок на вортексі. Щільно закрити пробірки, щоб уникнути витікання вмісту під час нагрівання.

**8.3.4.** Варіант теплового блоку: нагрівати центрифужні пробірки протягом 3 хвилин в тепловому блоці при температурі +120°C. Пробірки слід розміщувати у блоці тільки після досягнення вказаної температури.

Варіант водяної бані: необхідно нагрівати пробірки 3 хвилини при +100°C. Пробірки слід розміщувати у водяній бані тільки після виходу бані на задану температуру.

**8.3.5.** Після теплової обробки пробірки центрифугують при 10 000 g протягом 10 хвилин. Супернатант використовують для аналізів. Супернатант допускається зберігати при +4...+8°C протягом 48 годин в закритій пробірці за умови, що супернатант відділений від осаду.

## 9. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1	Помістіть у рамку необхідну кількість стрипів – із розрахунку на кількість досліджуваних зразків у двох повторах та 8 лунок для контрольних зразків.
2	<b>Змішайте Кон'югат (CONJ HRP) та Біотинільовані антитіла (CONJ BIOTIN)</b> у пластиковій одноразовій пробірці відповідного об'єму, згідно таблиці А, ретельно перемішайте. Отриманий розчин необхідно використати протягом двох годин.
3	<b>Внесіть у всі лунки по 50 мкл отриманої суміші Кон'югат-Біотинільовані антитіла.</b>
4	Внесіть <b>50 мкл підготовлених контрольних сироваток</b> (CONTROL- та CONTROL Cut-off у трьох повторах, CONTROL+ у двох повторах). В інші лунки внесіть по <b>50 мкл підготовлених зразків для аналізу у двох повторах</b> . Контрольні сироватки та зразки для аналізу необхідно внести протягом 15 хвилин.
5	<b>Заклейте планшет плівкою для заклеювання планшета та інкубуйте планшет протягом 90 хвилин при температурі +37°C та постійному струшуванні при 500-600об/хв.</b>
6	Після закінчення інкубації видаліть вміст лунок та <b>відмийте лунки 5 разів</b> . При кожному відмиванні додавайте в усі лунки по 250 мкл розчину для відмивання (див.п.7.3), струшуйте планшет круговими рухами на горизонтальній поверхні, а потім видаляйте рідину з лунок за допомогою вакууму або витрушуванням. Після закінчення відмивання необхідно ретельно видаляти залишки рідини з лунок на фільтрувальний папір.
7	<b>Внесіть у всі лунки по 100мкл розчину субстрату тетраметилбензидину.</b> Внесення розчину субстрату тетраметилбензидину в лунки необхідно провести протягом 2-3 хв. Інкубуйте планшет в темряві при кімнатній температурі (+18...+25°C) протягом 10–20 хвилин в залежності від швидкості розвитку синього забарвлення.
8	<b>Внесіть</b> в усі лунки з тією же швидкістю і у тій же послідовності, як і розчин субстрату тетраметилбензидину, по <b>50 мкл стоп-реагенту</b> , при цьому вміст лунок забарвлюється в яскраво-жовтий колір.
9	<b>Визначте величину оптичної густини (ОГ) вмісту лунок планшета на фотометрі вертикального сканування при довжині хвилі 450 нм.</b> Вимірювання ОГ вмісту лунок планшета необхідно провести протягом 15 хв після внесення стоп-реагенту. Бланк фотометра виставляйте за повітрям.

Таблиця А

λ	λ / f <sub>i</sub> λ (CON JHRP)	λ / f <sub>i</sub> /5A@<4;AF;@f <sub>i</sub>
2	0 .50	0 .50
3	0 .75	0 .75
4	1 .00	1 .00
5	1 .25	1 .25
6	1 .50	1 .50
7	1 .75	1 .75
8	2 .00	2 .00
9	2 .25	2 .25
10	2 .50	2 .50
11	2 .75	2 .75
12	3 .00	3 .00

### 10. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати аналізу вважати достовірними, якщо:

- Оптична густина (ОГ) позитивної контрольної сироватки CONTROL+ не нижча 1.3 оптичних одиниць (ОО);
- ОГ негативної контрольної сироватки CONTROL- не вища 0.25 оптичних одиниць (ОО);
- ОГ позитивної контрольної сироватки CONTROL Cut-off знаходиться в діапазоні 0.4-0.8 оптичних одиниць (ОО).

При ОГ зразка < ОГ CONTROL Cut-off – зразок негативний

При ОГ зразка > ОГ CONTROL Cut-off – зразок позитивний

При ОГ зразка = ОГ CONTROL Cut-off – зразок невизначений.

Такі зразки необхідно досліджувати повторно в двох лунках. При отриманні позитивного результату, хоча би в одній лунці, зразок вважати позитивним. Підтвердження результату необхідно проводити іншими методами дослідження. Результат не повинен розглядатися для постановки діагнозу.

#### З питань якості «GalMag-ІФА»

звертатися в ТОВ «ХЕМА» за адресою:

м. Київ, вул. Академіка Єфремова, 23

тел./факс: + 38 (044) 422-62-16

email: info@xema.com.ua

www.xema-medica.com

















Начальник відділу з контролю якості ТОВ «ХЕМА»

Коваленко Еліна Володимирівна







Символ	Значення символу
	Виробник
	Номер за каталогом
	Номер партії
	Використати до
	Обмеження температури
	Тільки для ін вітро діагностики
	Увага!
	Інструкція з використання
	Планшет
	Калібрувальні проби
	Контрольна сироватка
	Кон'югат
	Розчин субстрату тетраметилбензидину
	Концентрат розчину для відмивання
	Стоп-реагент
	ІФА-буфер

**Шановний клієнт!**

Якщо в процесі роботи з нашими Наборами Вам знадобляться пластикові ванночки для рідких реагентів, одноразові наконечники для дозаторів або додаткові об'єми реагентів (концентрат розчину для відмивання, ІФА-буфер, розчин тетраметилбензидину, стоп-реагент), що входять до складу Набору, просимо Вас звернутися до постачальника продукції ТОВ «ХЕМА» у вашому регіоні.

Всі вказані матеріали надаються безкоштовно, в необхідній для проведення дослідження кількості.

**Перелік Наборів реагентів для діагностики інфекційних захворювань виробництва ТОВ «ХЕМА»**

№ за каталогом	Найменування
K009	«HBsAg-ІФА»
K110	«антиВГС-ІФА»
K021	«GalMAg-ІФА»
K101	«Toxoplasma IgG-ІФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ІФА»
K102	«Rubella IgG-ІФА»
K102M	«Rubella IgM-ІФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ІФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ІФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ІФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ІФА»
K105	«Chlamydia IgG-ІФА»
K105M	«Chlamydia IgM-ІФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ІФА»
K106M	«Mycoplasma IgM-ІФА»
K111	«Treponema pallidum-ІФА»
K111G	«Treponema pallidum IgG-ІФА»
K111M	«Treponema pallidum IgM-ІФА»
K112	«антиВІЛ І(0), ІІ/р24-ІФА»
K119	«Helicobacter pylori IgG-ІФА»
K121	«Aspergillus IgG-ІФА»
K126	«Ureaplasma IgG-ІФА»
K171	«анти-Giardia lamblia-ІФА»

**Номер гарячої лінії технічної підтримки Клієнтів:****0 800 50 29 62**

**Усі дзвінки за номером гарячої лінії безкоштовні з будь-якого мобільного або стаціонарного телефону на всій території України.**

Чекаємо Ваших відгуків та пропозицій за адресою:  
ТОВ «Хема», тел.: +38 (044) 422-62-16;  
03179, м. Київ, вул. Академіка Єфремова, 23;  
e-mail: info@xema.com.ua

