

НАБОР ИФА
ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО И
ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИТЕЛ КЛАССА IgA К ВИРУСУ
ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ В СЫВОРОТКЕ
ЧЕЛОВЕКА

EIA-3522, VZV IgA ELISA

Каталог. № : EIA-3522
Количество : 96
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 01-2010
Версия 6.0



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

1. ВВЕДЕНИЕ

DRG Вирус ветряной оспы (ВВО) IgA Иммуноферментный Набор обеспечивает **качественное и полуколичественное** измерение класса IgA антител к Вирусу ветряной оспы в сыворотке крови. Только для использования в in-Vitro диагностике.

2. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Набор **Вирус Варицелла-Зостер (ВВЗ) IgA ELISA** - это набор для детекции антител класса IgA к вирусу Варицелла-Зостер в сыворотке человека.

На микротитровальные стрипованные лунки (твердая фаза) нанесен антиген к вирусу варицелла-зостер. **Разведенные** образцы пациента и **готовые к использованию** контроли пипетируются в лунки. Во время инкубации специфичные к вирусу варицелла-зостер антитела положительных образцов и контролей связываются с иммобилизованными антигенами.

После промывки (для удаления несвязанных образцов и контролей) в лунки добавляется конъюгат антител к IgA человека меченых пероксидазой хрена. Во время второй инкубации этот конъюгат связывается специфически с антителами IgA, в результате чего формируются иммунные комплексы с ферментативными связями. После второй промывки (для удаления несвязанного конъюгата) сформированные иммунные комплексы (в случае положительного результата) определяются в ходе инкубации с субстратом ТМБ, в результате чего появляется голубое окрашивание. Голубое окрашивание меняется на желтое при добавлении серной кислоты для остановки индикаторной реакции.

Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна количеству в образце антител специфичных к вирусу варицелла-зостер. Абсорбция считывается при 450 нм на микропланшетном ELISA - ридере.

3. ПРИМЕЧАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОЖНОСТИ

- Данный набор преданзаначен только для ин-витро диагностики.
- Все компоненты человеческого происхождения, используемые для производства этих реагентов, были протестированы на антитела к HIV и HBsAg на методах 3-его поколения и показали отрицательный результат. Тем не менее, со всеми материалами необходимо обращаться как с потенциально инфицированными.
- Контроли и стандарты варицелла-зостер IgA признаны не инфицирующими клеточные культуры.
- Избегать контакта со стоп-раствором, т.к. он содержит 0,5 Моль/л H₂SO₄. Может вызвать ожоги и раздражения кожи.
- Не пипетировать ртом. Избегать попадания реагентов и образцов на кожу и слизистые мембраны.
- В рабочих помещениях не курить, не есть, не пить, не наносить косметические средства.
- При работе с образцами и реагентами использовать одноразовые латексные перчатки. После работы тщательно мыть руки. Микробное загрязнение реагентов и образцов может привести к неправильному результату..
- Обращаться с реагентами набора в строгом соответствии с методами, определяемыми национальными нормами биологической безопасности.
- Не использовать реагенты после даты срока годности, указанной на этикетке набора.
- Все объемы реагентов, указанные в данной инструкции должны строго соблюдаться. Оптимальный результат можно получить

только при использовании калиброванных мерных приборов и спектрофотометров.

- Не использовать вместе реагенты или стрипы из разных лотов, а также микролунки разных наборов одного лота.
- Не использовать вместе реагенты разных производителей.
- Химикаты и приготовленные или использованные реагенты следует утилизировать как опасные отходы, в соответствии со стандартами биологической безопасности.
- Данные об опасных веществах, входящих в состав набора, указаны в Паспорте данных безопасности. Паспорт данных безопасности предоставляется по запросу напрямую от производителя (DRG Instruments GmbH).
- Паспорт данных безопасности соответствует требованиям директивы ЕС: EU-Guideline 91/155 EC.

4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

4.1 Содержимое набора

1. **Микротитровальные лунки**, 12 x 8 (делимых) стрипов, 96 лунок; Лунки покрыты антигеном вируса варицелла-зостер. (также 1 держатель для стрипов, 1 пленка для накрывания)
2. **Разбавитель образцов*****, 1 флакон, 100 мл, готов к использованию, желтого цвета; pH 7.2 ± 0.2.
3. **Сорбент IgG-RF*****, 1 флакон, 6.5 мл, готов к использованию, желтого цвета.
4. **Положительный контроль*****, 1 флакон, 1.0 мл, готов к использованию; желтого цвета, красный колпачок.
5. **Отрицательный контроль*****, 1 флакон, 2.0 mL, готов к использованию; желтого цвета, желтый колпачок.
6. **Cut-off контроль*****, 1 флакон, 2.0 мл, готов к использованию; желтого цвета, черный колпачок.
7. **Ферментный конъюгат****, 1 флакон, 20 мл, готов к использованию, красного цвета: антитело к IgA человека конъюгированное с ПХ.
8. **Раствор субстрата**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию, Тетраметилбензидин (ТМБ).
9. **Стоп-раствор**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию, содержит 0.5 Моль/л H₂SO₄, Избегать контакта со стоп-раствором. Может вызывать ожоги и раздражение кожи.
10. **Промывочный раствор***, 1 флакон, 30 мл (концентрированный 20X для 600 мл), pH 7.2 ± 0.2
См. пункт „Приготовление реагентов“.

* содержит 0.03 % ПроКлин 300

** содержит 0.03 % ПроКлин 300 + 0.01 % Гентамицин-сульфат

*** содержит 0.03 % ПроКлин 300 + 0.015 % 5-бромо-5-нитро-1,3-диоксан (БНД) +

0.010 % 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (МИТ)

4.1.1 Оборудование и материалы, не входящие в состав набора

- Калиброванный спектрофотометр для микропланшетов (450/620нм ±10 нм)
- Калиброванные прецизионные микропипетки переменного объема
- Инкубатор, 37 °С
- Ручной или автоматический промыватель лунок
- Вортесный миксер для пробирок
- Деионизованная или свежая дистиллированная вода
- Таймер
- Впитывающая бумага

4.2 Стабильность и хранение

Реагенты стабильны до даты срока годности, указанной на этикетке при хранении при 2±8 °С. Не использовать реагенты после окончания срока годности!

Вскрытые реагенты хранить при температуре 2± 8 °С

Микротитровальные лунки хранить при 2 ±8 °С

Вскрытые наборы стабильны до 4 месяцев при надлежащем хранении.

4.3 Приготовление реагентов

Все реагенты и необходимое количество лунок привести к комнатной температуре.

Промывочный раствор

Развести промывочный раствор **1+19** (напр. 10 мл + 190 мл) свежей, очищенной от бактерий редистиллированной водой.

Потребление: ~5 мл на определение.

Кристаллы в растворе исчезают при нагревании до 37 °С на водяной бане.

Стабильность после разведения: 4 недели при 2 ± 8 °С.

4.4 Утилизация набора

Утилизация набора должна производиться в соответствии с национальными правилами. Особая информация по данному продукту указана в Паспорте данных безопасности (см. главу 13 Паспорта).

4.5 Поврежденные наборы

В случае серьезного повреждения набора или его компонентов, следует немедленно уведомить поставщика в письменной форме, не позднее чем через неделю после получения набора. Поврежденные компоненты набора не следует использовать для анализа. Поврежденные компоненты необходимо сохранить до принятия окончательного решения. После этого поврежденные компоненты следует уничтожить в соответствии с официально установленными правилами.

5. ОБРАЗЦЫ

Для данного теста можно использовать сыворотку. Не использовать гемолизованную, желтушную, липемическую сыворотку.

5.1 Взятие образцов

Сыворотка:

Собрать кровь венепункцией, дать свернуться, отделить сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Не центрифугировать до полного свертывания. Образцы пациентов, получающих антикоагулянтную терапию, могут потребовать более долгого времени свертывания.

5.2 Хранение образцов

До анализа образцы следует хранить закрытыми до 24 часов при 2-8 °С, для более долгого хранения заморозить только один раз при -20 °С или ниже. Оттаявшие образцы перед постановкой инвертировать несколько раз.

5.3 Разведение образцов

1. Развести каждый образец пациента **1+50 раствором для разведения образцов**, напр., 10 мкл образца + 0.5 мл разбавителя. **Тщательно смешать.**
2. Развести этот предварительно разбавленный образец 1+1 с **Сорбентом IgG-RF**, например, 60 мкл предварительно разведенного образца + 60 мкл **Сорбента IgG-RF**. **Тщательно смешать.**
3. **Дать постоять минимум 15 минут при КТ, хорошо смешать, или оставить на ночь при 2-8 °С и снова тщательно перемешать.**
4. Взять 100 мкл этих разведенных образцов для ИФА.

Примечание: Контроли готовы к использованию и их не надо разводить!

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

6.1 Общие замечания

- Перед использованием выдержите все реагенты при комнатной температуре. Тщательно перемешайте все реагенты и образцы перед использованием, легко переворачивая без образования пены.
- После начала исследования все этапы нужно выполнять без перерывов.
- Используйте каждый раз новые пластиковые пипетки для каждого стандарта, образца и контроля для предотвращения перекрестного загрязнения.
- Абсорбция является функцией времени инкубации и температуры. Приготовьте все необходимое перед началом исследования, чтобы не тратить время во время самого исследования.
- В основном ферментативная реакция является линейно пропорциональной времени и температуре.

6.2 Процедура анализа

Перед проведением анализа необходимо составить схему распределения и идентификации образцов и контролей с помощью формы вложенной в набор.

1. Отобрать требуемое количество микротитровальных стрипов или лунок и поместить их в держатель.
Разместите по меньшей мере:
1 лунка (напр., А1) для бланка субстрата,
1 лунка (напр., В1) для отрицательного контроля.
2 лунки (напр., С1+D1) для Cut-off контроля и
1 лунка (напр., Е1) для положительного контроля.
На усмотрение пользователя можно ставить образцы и контроли в дублиях.
2. Внести по

100 мкл отрицательного контроля в лунку В1

- 100 мкл Cut-off-контроля в лунки С1 и D1,
- 100 мкл положительного контроля в лунку Е1
- 100 мкл каждого разведенного образца пациента в оставшиеся лунки согласно схеме.

Оставить лунку А1 для бланка субстрата!

3. **Накрыть лунки пленкой поставляемой в набор.** Инкубировать **1 час при 37 °С.**
4. Удалить содержимое лунок и промыть их 5 раз 300 мкл рабочего промывочного раствора. В конце осторожно удалить остатки жидкости, выстучав стрипы на салфетку перед следующим этапом!
Примечание: Промывка очень важна! Плохая промывка может привести к низкой точности и завышенным значениям абсорбции.
5. Раскапать **100 мкл** готового к употреблению конъюгата антител к IgA **во все лунки кроме А1.**
6. Накрыть пленкой. Инкубировать **30 минут при комнатной температуре (20-25 °С).** Не подвергать воздействию прямого солнечного света!
7. Удалить содержимое лунок и промыть их 5 раз 300 мкл рабочего промывочного раствора. В конце осторожно удалить остатки жидкости, выстучав стрипы на салфетку перед следующим этапом!
8. Внести по **100 мкл** готового к употреблению раствора ТМБ **во все лунки.**
9. Накрыть. Инкубировать **ровно 15 минут при комнатной температуре (20 ± 25 °С) в темноте.**
10. Внести 100 мкл стоп-раствора (как и ТМБ) **во все лунки.** Любое голубое окрашивание, проявившееся во время инкубации, переходит в желтое.
11. Считать оптическую плотность при длине волны 450/620 нм в течение 30 минут после добавления стоп раствора.

7. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1 Действительность анализа

Постановка анализа может считаться **действительной** при соблюдении следующих условий:

- **Бланк субстрата в А1:** ⇒ значение абсорбции менее **0.100.**
- **Отриц. контроль в В1:** ⇒ значение абсорбции менее **0.200.**
- **Cut-off контроль в С1/D1:** ⇒ значение абсорбции между **0.300-0.850**
- **Отриц. контроль в Е1:** ⇒ значение абсорбции более **0.600.**

7.2 Результаты

Среднее значение абсорбции Cut-off- контроля [СО]

Рассчитать среднее значение абсорбции 2 определений **Cut-off**-контроля (напр., в С1/D1).

Пример: $(0.44 + 0.46) \div 2 = 0.45 = СО$

7.3 Интерпретация

Средние значения абсорбции образцов пациента более чем на 20 % больше СО ⇒ **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ**
(Средние) значения абсорбции пациентов от 20 % выше до 10 % ниже СО ⇒ **СЕРАЯ ЗОНА** ⇒ повторить анализ
2 - 4 недели спустя – на новых пробах пациентов
Результат второго анализа опять в «серой зоне» ⇒ **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ**
Средние значения абсорбции пациента более чем на 10 % ниже СО ⇒ **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ**

7.3.1 Результаты в единицах DRG

среднее значение абсорбции пациента × 10

$$\frac{СО}{1.580 \times 10} = [\text{Единицы} = E]$$

Пример: $\frac{0.45}{1.580 \times 10} = 35 E$ (Единицы)

Интерпретация результатов

Значение Cut-off:	10 NU
Серая зона:	9 – 11 NU
Отрицательный:	< 9 NU
Положительный:	> 11 NU

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольные образцы в соответствии с региональными и государственными нормами. Использование контрольных образцов необходимо для подтверждения достоверности рутинных тестов. Использовать контроли при нормальных и патологических уровнях.
Так же рекомендуется использовать отечественные и международные программы оценки качества для того чтобы обеспечить точность результатов.
Если результат анализа не соответствует установленным допустимым диапазонам контрольных материалов, результат пациента считается недействительным.

В этом случае необходимо проверить следующие технические моменты: дозирующие устройства, таймеры, даты срока годности реагентов, условия инкубации и хранения, методы аспирации и промывки.

После проверки вышеуказанных пунктов и необнаружении ошибок в процедуре необходимо связаться с вашим поставщиком продукции ДРГ.

9. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

9.1 Диагностическая специфичность (92.8%)

Определяется как способность тест-системы показать отрицательный результат при отсутствии специфичных аналитов.

9.2 Диагностическая чувствительность (98.7%)

Определяется как способность тест-системы показать положительный результат в присутствии специфичного аналита.

10. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Бактериальное загрязнение или многократное замораживание/оттаивание образцов могут повлиять на значения абсорбции.

Результаты пациентов с ослабленным иммунитетом, а так же новорожденных имеют ограниченное диагностическое значение.

11. ЮРИДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

11.1 Достоверность результатов

Анализ должен выполняться в строгом соответствии с вложенной в набор инструкцией. Кроме того, пользователь должен строго придерживаться правил Надлежащей лабораторной практики или прочих национальных стандартов и/или законов. Это особенно важно для использования контрольных реагентов. Наряду с образцами пациента важно включать в каждую постановку достаточное количество образцов для подтверждения диагностической достоверности и сходимости анализа.

Результаты анализа действительны только в том случае, когда все контроли находятся в пределах указанных допустимых диапазонов, и все другие параметры анализа также соответствуют указанным спецификациям тест-системы.

11.2 Терапевтические последствия

Терапевтические последствия не должны основываться только на результатах лабораторных тестов. Любой результат лабораторного анализа является только частью клинической картины пациента.

Диагностика инфекции не должна основываться на результате одного теста. Точный диагноз должен учитывать историю болезни, симптоматику и серологические данные.

Выводы о лечении могут приниматься только в случае соответствия результатов лабораторного анализа клинической картине пациента.

11.3 Ответственность

Любое изменение набора или замена/одновременное использование компонентов разных лотов одного наименования может привести к ошибочному результату. Такое изменение / замена делают претензию недействительной.

Рекламации, связанные с неправильной интерпретацией пользователем результатов анализа так же недействительны. Вне зависимости от причины рекламации, ответственность производителя не превышает стоимость набора. Производитель не несет ответственность за любые повреждения, возникшие при транспортировке набора.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

© Перевод на русский язык ООО «ДИАМЕБ»