



Набор ИФА для определения ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА IgG

Кат. № : 1201Z
Количество тестов : 96
Производитель : DAI (США)

Методика 10-10-2009

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

Анализ	Cytomegalovirus CMV IgG
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль и пороговое значение (cut-off)
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	98 %
Чувствительность	97 %
Общее время	~ 90 мин.
Срок годности	12-18 мес.

ПРИМЕНЕНИЕ

Набор CMV IgG предназначен для определения серологического статуса пациента при цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ).

ВВЕДЕНИЕ

Цитомегаловирус является вирусом герпеса и основным биологическим фактором, вызывающим врожденные аномалии и нарушения, которые передаются при переливании крови при проведении иммуносупрессивной терапии. Около половины беременных женщин, заразившихся данной болезнью, передают заболевание плоду. Приобретенная внутриутробная инфекция может стать причиной задержки умственного развития, слепоты и/или глухоты.

Серологические анализы по определению антител к ЦМВ могут использоваться для получения информации об истории предыдущих случаев инфицирования, для диагностики наличия активной формы болезни или перенесенной болезни, а также для скрининга образцов крови, предназначенных для переливания новорожденным и иммунокомпромиссным реципиентам. Diagnostic Automation CMV IgG является точным серологическим методом для определения антител к ЦМВ для идентификации инфекции ЦМВ.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген, привитый к поверхности микрочаек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки и специфическое антитело CMV IgG, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он связывается с комплексом антитело-антиген. Остатки ферментного конъюгата вымываются и добавляются субстрат и хромоген. Каталитическая реакция останавливается в специфическое время. Интенсивность вырабатываемого цвета пропорциональна количеству специфического IgG-антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Лунки микропланшета, покрытые очищенным антигеном ЦМВ (12x8 лунок).
2. Ферментный конъюгат, раствор красного цвета – 1 фл. 12 мл.
3. Отрицательный калибратор: 0 МЕ/мл, натуральная крышка – 150 мкл/фл.
4. Калибратор величины исключения: 1,2 МЕ/мл, желтая крышка – 150 мкл/фл. Коэффициент CMV IgG = 1,0
5. Положительный калибратор: 6 МЕ/мл, красная крышка (150 мкл / флакон).

6. Положительный калибратор: 18 МЕ/мл, зеленая крышка – 150 мкл/флакон
7. Отрицательный контроль: границы указаны на флаконе, голубая крышка – 150 мкл/флакон
8. Положительный контроль: границы указаны на ярлыке, коричневая крышка – 150 мкл/флакон
9. Промывочный концентрат 10x: белая крышка – 1 бутылка 100 мл
10. Разбавитель образцов: раствор голубого цвета – 1 бутылка 22 мл
11. Хромоген субстрат ТМВ, янтарная бутылка – 1 флакон, 15 мл
12. Стоп раствор: 2 N HCl – 1 флакон, 12 мл.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты, входящие в состав набора, следует хранить при 2-8°C.
2. Микропланшет хранить в закрытой упаковке с осушителем. Рекомендуется использовать лунки в течении 4 недель после вскрытия
3. Все реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время их хранения или использования.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ (1+2), ни один из известных методов не может дать полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами, как с потенциально инфекционным материалом.
2. В целях безопасности в лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой, пипетировать компоненты набора ртом.
3. Не использовать для проведения анализа реагенты разных серий.
4. Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом и медью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

СБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Собрать образцы крови и отделить сыворотку.
2. Образцы можно хранить при 2-8°C не более одной недели или замороженными в течении 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Приведите все компоненты набора и анализируемые образцы до комнатной температуры (20-25°C) и аккуратно перемешать.
2. Промывочный буфер развести дистиллированной или деионизированной водой до общего объема 1 литр

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

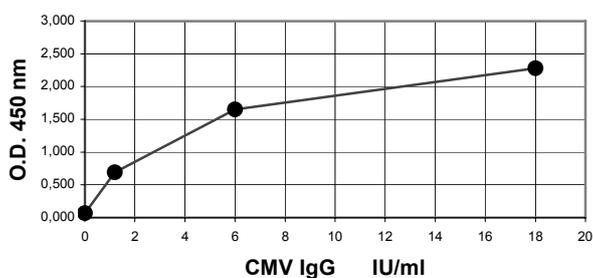
1. Поместить нужное количество стрипов в штатив.
2. Развести разбавителем для образцов в соотношении 1:40, добавляя 5 мкл образца, отрицательный контроль, положительный контроль и калибраторы к 200 мкл разбавителя для образцов. Тщательно перемешать.
3. В соответствующие лунки внести по 100 мкл разведенных образцов сыворотки, калибратора и контролей. Для определения фона внести 100 мкл разбавителя для образцов в лунку 1А. Удалить пузырьки воздуха из жидкости и тщательно перемешать содержимое лунок. Инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
4. Удалить жидкость из лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
5. Внести в каждую лунку по 100 мкл ферментного конъюгата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
6. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
7. Внести 100 мкл ТМВ хромогенного субстрата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
8. Внести 100 мкл стоп раствора для остановки реакции.
9. С помощью ридера измерить оптическую плотность лунок при 450 нм.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите среднее значение дубликатов калибратора x_c .
2. Вычислите среднее значение дубликатов положительного контроля, отрицательного контроля и образцов сыворотки.
3. Вычислите коэффициент CMV IgG каждого определения разделив среднее значение каждого образца на среднее значение калибратора, x_c .

Пример типичных результатов**Коэффициент CMV IgG порогового калибратора = 1,0**ОП калибратора = 0,685, 0,695 $X_c=0,690$ ОП образца пациента = 1,373, 1,457 $X_p=1,415$ Коэффициент CMV IgG = $1,415/0,690 = 2,05$ **КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА CMV IgG**

Для количественной оценки уровня анти- CMV IgG положительных образцов в МЕ/мл, на оси Y на графике откладывается ОП калибратора и положительного контроля против их соответствующей концентрации CMV IgG 0, 1,2, 6, 18 МЕ/мл на оси X. Уровень в сыворотке пациента считывается с графика, используя их индивидуальные величины ОП. Например:

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Ход анализа можно считать удовлетворительным, если выполняются следующие требования:

1. ОП контрольного реагента с микропланшетного ридера должна быть меньше 0,250
2. Если ОП калибратора будет меньше 0,250, тест считается не действительный и его нужно повторить
3. Коэффициент CMV IgG или МЕ/мл единицы для отрицательного и положительного контроля должны быть в границах, указанных на ярлыке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: коэффициент CMV IgG = 0,90 или ниже является сероотрицательным для антитела IgG CMV (<1,1 МЕ/мл)

Нейтральный: коэффициент CMV IgG 0,91-0,99 является нейтральным. Образцы следует тестировать повторно.

Положительный: коэффициент CMV IgG 1,00 или выше, или величина МЕ выше чем 1,2 является сероположительным. Он указывает на предварительное выделение к вирусу CMV (>1,2 МЕ/мл)

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**Чувствительность и специфичность**

Тестировалось 85 образцов сыворотки для оценки специфичности и чувствительности. Результаты данного теста:

		Референтный ИФА			
		N	E	P	Общее
ИФА компании ДАИ	N	45 (D)	0	1 (B)	46
	E	0	1	0	1
	P	1 ©	0	38 (A)	39
	Общее	46	1	39	86

Чувствительность = $A / (A+B) = 38/39 = 97\%$

Специфичность = $D / (C+D) = 45/46 = 98\%$

Точность = $(A+D) / (A+B+C+D) = (38+45) / (38+1+1+45) = 83 / 85 = 98\%$

Точность

Точность была оценена тестированием трех разных сывороток 8 репликантов три дня. Внутри и между тестовая точность показана ниже:

	Отрицательный	Низко положительный	Положительный
В анализе	8,9%	8,2%	7,2%
Между анализами	9,7%	8,3%	7,8%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Как и в других серологических анализах, результаты этого анализа должны интерпретироваться совместно с другой клинической информацией.
2. Липемические, гемолизированные, иктерические и инактивированные нагреванием образцы сыворотки крови могут исказить результаты анализа.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»

Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.ua

www.diameb.ua