



ТЕСТ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ IgG АНТИТЕЛ К ВАРИЦЕЛЛЕ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ТВЕРДОФАЗНОГО АНАЛИЗА (ИФА)

Тест для количественного определения IgG антител к вирусу ветряной оспы (ВВО) в сыворотке крови человека

Кат.№: 1412Z
Производитель: Diagnostic Automatic, Inc., (США)

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

Методика от 12-18-2012

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	Varicella IgG ИФА
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Непрямой ИФА: антигенное покрытие пластин
Диапазон обнаружения	Качественный: Положительный и отрицательный Контроль
Образец	10 мкл
Специфичность	97.0 %
Чувствительность	99.4 %
Общее время	~ 75 минут
Срок хранения	12-14 месяцев
Температура хранения	2-8 °С

*Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание.

НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

"Diagnostic Automation" ИФА по определению IgG антител к ВВО предназначен для использования в оценке серологического статуса пациента к инфекции ВВО. Он также используется для оценки парной сыворотки на наличие значительного роста специфичных IgG как указателя на недавнее или текущее инфицирование ВВО. Для использования в *in-Vitro* диагностике. Тест высокой сложности.

ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА

Очищенные антигены ВВО нанесены на поверхность микролунок. Разведенный образец сыворотки пациента помещается в лунки, и характерное для ВВО IgG антитело, если присутствует, соединяется с антигеном. Все свободные материалы смываются. После добавления ферментного конъюгата, он соединяется с комплексом антитело-антиген. Избыточный ферментный конъюгат промывается и добавляется ТМБ хромогенный субстрат. Каталитическая реакция ферментного конъюгата останавливается в определенное время. Интенсивность полученного цвета пропорциональна количеству IgG специфического антитела. Результаты считываются при помощи считывающего устройства микролунок и сравниваются параллельно с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Каждый набор содержит в достаточных количествах следующие компоненты для проведения числа анализов, указанного на этикетке упаковки.

1. Микролуночные полоски: микролуночки, покрытые антигеном ВВО. 12 x 8 лунок
2. Разбавитель образца типа I: Готов к использованию, 1 пузырек 30 мл
3. Калибратор: Человеческая сыворотка или дефибринированная плазма, 1 флакон (0.4 мл)
4. Положительный контроль: Человеческая сыворотка или дефибринированная плазма, диапазон указан на этикетке, 1 флакон (0.4 мл)
5. Отрицательный Контроль: Человеческая сыворотка или дефибринированная плазма, диапазон указан на этикетке, 1 флакон (0.4 мл)
6. HRP-Конъюгат: Готов к использованию, 1 пузырек 16 мл
7. Раствор Хромогена/Субстрата: ТМБ, готов к использованию, 1 пузырек, 15 мл

8. Промывочный концентрат 20X: Разбавить 1 часть концентрата + 19 частей деионизированной или дистиллированной воды, 1 пузырек 50 мл

*Примечание: пробирки с сывороткой могут содержать излишки материала.

Следующие компоненты не зависят от номера партии набора и могут взаимозаменяться в ИФА: Растворитель сыворотки типа 1, Раствор Хромогена/Субстрата типа 1, Промывочный буфер типа 1, и Стоп раствор.

Дополнительное оборудование

1. Промывочная бутылка, автоматизированная или полуавтоматизированная система промывки планшета.
2. Микропипетки для точного дозирования 10-200 мкл.
3. Мерный цилиндр на 1 л.
4. Бумажные полотенца.
5. Тестовые пробирки для разведения.
6. Резервуары реагентов для многоканальных пипеток.
7. Одноразовые наконечники для пипеток.
8. Дистиллированная или деионизированная вода.
9. Таймер 0-60 минут, ± 1 секунда.
10. Контейнер для отходов и дезинфицирующее средство.
11. Микропланшетный считыватель с длиной волны измерения 450 нм.

Примечание: использовать только чистые стеклянные пробирки.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить невскрытый набор при 2-8°C.
2. Предварительно покрытые микролуночные полоски: хранить при 2-8°C. Лишние полоски должны быть немедленно повторно запечатаны с высушивающим средством и возвращены для соответствующего хранения. Полоски устойчивы в течение 60 дней после того, как мешочек был открыт и должным образом вторично закрыт, и индикатор остается синим.
3. Конъюгат. Хранить при 2-8°C.
4. Калибратор, положительный и отрицательный контроль: Хранить при 2-8°C.
5. Разбавитель образца и Промывочный буфер. Хранить при 2-8°C.
6. Раствор Хромогена/Субстрата. Хранить при 2-8°C.
7. Концентрат промывочного буфера (разведенный). Хранить при 21-25 °С до 5 дней, или 7 дней при 2-8 °С.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Для диагностического использования *in vitro*.
2. Калибратор и контроли содержат компоненты человеческого происхождения, которые были протестированы и оказались неактивными по отношению к поверхностному антигену гепатита В, а также к антителу ВИЧ, при взаимодействии с реактивами, лицензированными Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США).
3. Так как не существует метода, который может предложить полную уверенность в том, что ВИЧ, вирус гепатита В или другие инфекционные агенты отсутствуют, с этими реагентами необходимо обращаться, придерживаясь 2-го Уровня Биологической Безопасности.
4. Компоненты набора предназначены для использования как интегральная единица. Не смешивать компоненты из разных партий.
5. Не использовать компоненты после окончания срока годности.
6. Все реагенты перед началом анализа должны быть приведены к комнатной температуре (21-25°C). **Не помещать реагенты обратно в емкости во избежание загрязнения.**
7. Перед открыванием пробирок с Контролем и Калибратором убедитесь, что всё содержимое находится на дне ёмкости.
8. Используйте только дистиллированную или деионизированную воду и чистые ёмкости.
9. Не допускать высыхания лунок во время проведения анализа; добавлять реагенты немедленно после шагов промывания.
10. Избегать перекрестного загрязнения реагентов. Мыть руки до и после работы с реагентами. **Перекрестное загрязнение реагентов и/или образцов может вызвать ошибочные результаты.**
11. Если промывка осуществляется вручную, лунки промывать три раза.
12. **Азид натрия влияет на активность Конъюгата. Для добавления конъюгата использовать чистые наконечники.**
13. Азид натрия считается таким, который образует азиды свинца и меди во внутренней канализации лаборатории. Что может вызвать взрыв при ударе. Во избежание этого, тщательно

- промойте раковину водой после утилизации раствора с азидом натрия.
14. Никогда не пипетируйте ртом. Избегайте контакта реагентов и образцов пациентов с кожей или слизистыми оболочками.
 15. Если гипохлорит натрия используется в качестве дезинфектанта, не работайте с ним во время проведения процедуры анализа, так как это может повлиять на активность фермента.
 16. Стоп раствор ТОКСИЧЕН. Причиняет ожоги. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при заглатывании. При несчастном случае или при плохом самочувствии немедленно обратитесь за медицинской помощью.
 17. **Осторожно:** во избежание образования опасных газов, жидкие отходы должны быть нейтрализованы перед добавлением гипохлорида.
 18. Концентрации анти-ВВО в исследуемом образце могут варьироваться в зависимости от используемого набора (разные производители).

ЗАБОР ОБРАЗЦОВ И ОБРАЩЕНИЕ С НИМИ

1. Обращаться со всеми образцами крови и сыворотки как с потенциальными переносчиками инфекции.
2. Оптимальная работа данного набора зависит от использования свежих образцов сыворотки (чистых, не гемолизированных, не липемических, не иктерических). Рекомендуется использование минимального объема в 50 мкл; при необходимости повторить тестирование. Забор образцов проводить венопункцией. Ранее отделение от сгустков предотвращает гемолиз сыворотки.
3. Образцы могут храниться охлажденными при температуре 2-8 °С, если тестирование проводится в течение 2 дней. Если образцы сохраняются на длительное время, их необходимо хранить при -20 °С или ниже. Неправильное хранение образцов или их повторное замораживание-размораживание могут привести к ложным результатам.
4. Если берутся парные сыворотки, образцы должны быть собраны в период острого заболевания как можно быстрее после появления симптомов. Второй образец необходимо взять через 14-21 день после забора первого образца. Оба образца должны тестироваться в дублях на одном планшете для проверки значительного увеличения. Если первый образец был взят поздно в процессе протекания болезни, значительное увеличение может не наблюдаться.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Подготовка к анализу

1. Привести все образцы и реагенты набора к комнатной температуре (21-25 °С). Вернуть все реагенты в холодильник после использования.
2. Все образцы и контроли должны быть тщательно перемешаны.
3. Развести 50 мл промывочного буфера в 1,2 л дистиллированной или деионизированной воды. Аккуратно перемешать.

Процедура анализа

Примечание: Для оценки парной сыворотки оба образца должны тестироваться в дублях на одном планшете. Рекомендуется проводить тестирование парных сывороток в смежных лунках.

1. Поместить требуемое количество покрытых полосок в держатель. Провести четыре (4) определения Контроля/Калибратора (один Отрицательный Контроль, два Калибратора и один Положительный Контроль) в одном анализе. Реагент Бланк (RB) тестировать в каждом анализе. Проверить характеристики программного обеспечения и считывающего устройства для правильности конфигурации Контроля/Калибратора. Вернуть неиспользованные полоски в запечатывающийся пакет с осушителем и поместить в холодильник.

Пример:

Plate Location	Sample Description	Plate Location	Sample Description
1A	RB	2A	Patient #4
1B	NC	2B	Patient #5
1C	Cal	2C	Patient #6
1D	Cal	2D	Patient #7
1E	PC	2E	Patient #8 (Acute 1)
1F	Patient # 1	2F	Patient #8 (Acute 2)
1G	Patient # 2	2G	Patient #8 (Convalescent 1)
1H	Patient # 3	2H	Patient #8 (Convalescent 2)

RB = Реагент Бланк – лунка без добавления сыворотки, анализируется со всеми реагентами.

NC = Отрицательный Контроль

Cal = Калибратор

PC = Положительный Контроль

2. Приготовить растворы 1:21 (например, 10 мкл + 200 мкл) тестируемых образцов сыворотки, Калибратора и Контрольной сыворотки. Тщательно перемешать. (Для ручного разведения рекомендуется поместить в пробирку сначала Растворитель сыворотки, потом добавить образец пациента).
3. Распределить 100 мкл разбавленной сыворотки, калибратор и контроли в соответствующие лунки. Добавить 100 мкл растворителя в лунку Реагента Бланк. Проверить программное обеспечение и считыватель на правильность настройки для Реагента Бланк.
4. Инкубировать каждую лунку при комнатной температуре (21-25 °С) в течение **25 ± 5 минут**.
5. Удалить раствор из всех лунок. При использовании полуавтоматического или автоматического моющего оборудования, добавьте 250-300 мкл разбавленного промывочного буфера в каждую лунку. Аспирируйте или встряхните и переверните планшет вверх вниз на бумажное полотенце для удаления всей жидкости. Повторите процедуру промывания два раза (в общей сложности три (3) промывки) для ручного или полуавтоматического оборудования или четыре раза (в общей сложности 5 (пять) промывок) для автоматизированного оборудования. После последней промывки, промокните планшет бумажным полотенцем для удаления всей жидкости из лунок.

****ВАЖНО:** Относительно шагов 5 и 8 - недостаточная или чрезмерная промывка приведут к изменению анализа и будут влиять на достоверность результатов. Таким образом, для достижения наилучших результатов необходимо использовать полуавтоматическое или автоматическое оборудование для полного заполнения каждой лунки (250-300 мкл). В общей сложности, до пяти (5) промывок могут быть необходимыми с автоматическим оборудованием. **Полное удаление промывочного буфера после последней промывки является очень важным для точности выполнения теста. Кроме того, визуально убедитесь, чтобы не было пузырей в лунках.**

6. Добавить 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку, включая лунку Реагента Бланк. Избегать образования пузырей при добавлении, так как это может привести к ложным результатам.
7. Инкубировать каждую лунку при КТ (21-25 °С) в течение **25 ± 5 минут**.
8. Повторить промывку, как описано в пункте 5.
9. Добавить 100 мкл раствора хромоген/субстрат (ТМВ) в каждую лунку, включая лунку Реагента бланк, поддерживая постоянную скорость добавления по всей пластине.
10. Инкубировать каждую лунку при КТ (21-25 °С) в течение **10-15 минут**.
11. Остановить реакцию добавлением 100 мкл стоп-раствора (1N H₂SO₄) в том же порядке добавления хромогена/субстрата, в том числе Реагент Бланк. Постучать аккуратно по планшету вдоль наружных краев, чтобы перемешать содержимое лунок. Пластина может быть проверена в течение до 1 часа после добавления стоп раствора.
12. Развившаяся окраска должна быть прочитана на считывающем устройстве планшета, оснащенного фильтром с длиной волны 450 нм. Если используется двойная длина волны, установите фильтр на 600-650 нм. Инструмент должен быть выставлен по сравнению с воздухом. Реагент Бланк должен иметь плотность, меньшую 0,150 при 450 нм. Если Реагент Бланк > 0,150, анализ необходимо повторить. Обнулить считывающее устройство по Реагенту Бланк, а затем продолжить считывание всей пластины. Избавиться от использованных планшетов после получения результатов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Проведение теста считается действительным при соблюдении следующих условий:

1. Калибратор и контроли должны использоваться в каждой процедуре анализа.
2. Реагент бланк (при считывании против воздуха) должен иметь абсорбцию (A) < 0,150 при 450 нм.
3. Отрицательный контроль должен быть < 0,250 A при 450 нм (против бланка реагента).
4. Каждый калибратор должна быть > 0,250 A при 450 нм (против бланка реагента).
5. Положительный контроль должен быть > 0,500 A при 450 нм (против бланка реагента).
6. Значения ISR (коэффициент иммунного статуса) для положительного и отрицательного контролей должны быть в их установленных границах, указанных на этикетках флаконов. Если значения контролей не в рамках их соответствующих

диапазонов, испытание должно считаться недействительным и должно быть повторено.

- Дополнительные контроли могут быть протестированы в соответствии с рекомендациями или требованиями местных, государственных и/или федеральных правил или аккредитованных организаций.
- См. NCCLS C24-A для руководства по надлежащей практике контроля качества (38).
- Если вышеуказанные критерии не выполняются, обратитесь в техническую службу DAI.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Подсчет результатов

- Среднее ОП калибратора (Оптическая плотность) – для вычисления среднего значения ОП из двух определений калибратора.
- Поправочный коэффициент - для вычисления изо дня в день колебания активности анализа в зависимости от комнатной температуры и времени, поправочный коэффициент определяется DAI для каждой партии наборов. Поправочный коэффициент напечатан на флаконе калибратора.
- Предельное (Cut-off) значение Калибратора - Предельное значение Калибратора для каждого анализа определяется умножением поправочного коэффициента на среднюю ОП калибратора, определенную в п. 1.
- Значение ISR - Рассчитайте коэффициент иммунного статуса (ISR) для каждого образца путем деления Значения ОП образца на предельное значение калибратора, определенное в п. 3.

Например:

Значения ОП, полученные для калибратора = 0.38, 0.42
 Среднее значение ОП для калибратора = 0.40
 Поправочный коэффициент = 0.50
 Предельное значение калибратора = 0.50 x 0.40 = 0.20
 Значение ОП, полученное для образца = 0.60
 Значение ISR = 0.60/0.20 = 3.00

Анализ

- Значения ISR (коэффициент иммунного статуса) пациентов интерпретируются следующим образом:

ISR	Результаты	Интерпретация
≤ 0.90	Отрицательный	Не обнаруживаются антитела к ВВО с помощью теста ELISA. Такие предположительно, не инфицированы краснухой и будут восприимчивы к первичной инфекции. Образцы должны быть протестированы повторно. См. п. 3 ниже.
0.91-1.09	Сомнительный	Указывает на наличие обнаруживаемых IgG антител к ВВО. Свидетельствует о текущей или перенесенной инфекции.
≥ 1.10	Положительный	

- Образцы, которые остаются сомнительными после повторного тестирования, должны быть протестированы альтернативным методом, например, иммунофлюоресценции (IFA). Если результаты остаются сомнительными после дальнейшего тестирования, дополнительные образцы должны быть взяты. (См. Ограничение № 4).
- При оценке парных сывороток, если образец, взятый на острой стадии заболевания, дает отрицательный результат, а образец, взятый на стадии выздоровления, даёт положительный результат, это указывает на то, что сероконверсия имела место. Это указывает на значительное изменение уровня антител и пациент находится в стадии первичной инфекции.
- Для оценки сыворотки на значительное изменение уровня антител или сероконверсии, оба образца должны быть протестированы в двух экземплярах в том же анализе. Среднее ISR обоих образцов (острая форма и период выздоровления) должно быть больше, чем 1,00 для оценки парной сыворотки на значительное повышение уровня антител.
- Дополнительный контроль качества парных сывороток: (См. ПРИМЕЧАНИЕ к процедуре исследования). В качестве проверки для приемлемой воспроизводимости как сыворотки острой стадии (проверенной в двух экземплярах), так и сыворотки, взятой у выздоравливающих пациентов (проверенной в двух экземплярах), следующие критерии должны быть соблюдены для достоверных результатов:

$$\frac{\text{Acute 1 ISR}}{\text{Acute 2 ISR}} = 0.8 \text{ to } 1.2 \quad \frac{\text{Convalescent 1 ISR}}{\text{Convalescent 2 ISR}} = 0.8 \text{ to } 1.2$$

- Сравнить ISR пар путем вычисления следующим образом:

$$\frac{\text{Mean ISR (second sample)} - \text{Mean ISR (first sample)}}{\text{Mean ISR (first sample)}} \times 100 = \% \text{ RISE IN ISR LEVEL}$$

Пост ISR, %	Интерпретация
< 30.0 %	Никаких существенных изменений в уровне антител. Нет следов недавно перенесенной инфекции. Если болезнь по-прежнему подозревается, третья проба должна быть взята и испытана в том же анализе, что и первый образец, для определения значительного роста уровня антител.
> 30.0%	Статистически значимые изменения уровня антител обнаружены. Это определяет испытывающих тех лиц, которые, предположительно, недавно перенесли ВВО (реактивация, реинфекция или первичная инфекция, при которой образец в острой стадии заболевания был взят слишком поздно, чтобы продемонстрировать сероконверсию).

Примечание: При оценке парной сыворотки необходимо проверить, находятся ли образцы с высокой абсорбцией в пределах линейных характеристик спектрофотометра. Внимательно прочтите инструкцию по эксплуатации или обратитесь к изготовителю прибора для получения установленных линейных характеристик вашего спектрофотометра.

ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Пользователю данного комплекта рекомендуется внимательно прочитать и понять инструкции. Строгое соблюдение протокола необходимо для получения достоверных результатов теста. В частности, правильное пипетирование реагента и образца, а также тщательное промывание и соблюдение временных этапов инкубации и контроль температуры инкубации имеют важное значение для получения точных результатов.
- Этот набор предназначен для определения IgG антитела в образцах пациента. Положительные результаты у новорожденных должны быть интерпретированы с осторожностью, так как материнские IgG пассивно передаются зародышу от матери до рождения. Анализ IgM в основном более полезен как индикатор инфекции у детей в возрасте до 6-ти месяцев.
- Образцы, взятые вначале заболевания (в течение 5 дней после появления сыпи), могут не иметь обнаруживаемые уровни ВВО IgG. В таких случаях рекомендуется проведение IgM анализа, или взятие второго образца сыворотки через 14-21 день для параллельного тестирования с оригинальным образцом для определения сероконверсии, которая указывает на первичное инфицирование (8).
- Образцы, которые остаются сомнительными после повторного тестирования, должны быть протестированы альтернативным методом, например, иммунофлюоресценции (IFA). Если результаты остаются сомнительными после дальнейшего тестирования, дополнительные образцы должны быть взяты.
- После инфицирования ВВО иммунитет ко внутреннему реинфицированию остается на всю жизнь, поэтому случаи заболевания ВВО повторно не известны. Тем не менее, рецидив вируса может проявиться в форме опоясывающего лишая, и результаты определенного серологического исследования указывают на то, что реинфицирование или реактивация ВВО могут происходить при отсутствии клинических симптомов (8).
- Результаты ИФА, проведенные на сыворотках крови больных с иммуносупрессией или недавним переливанием крови, следует интерпретировать с осторожностью.
- Результаты определения антитела единичного образца не должны быть использованы как помощь в диагностировании недавней инфекции. Парные образцы (при остром заболевании и при выздоровлении) должны быть взяты и протестированы параллельно для определения сероконверсии или значительного роста уровня антител.
- Значения, полученные при помощи данного анализа, предназначены только как помощь в диагностировании. Каждый врач должен интерпретировать результаты в свете истории

пациента, физических исследований и других диагностических процедур.

9. Значительное повышение уровня антител должно быть использовано для подтверждения клинического диагноза атипичной инфекции ветряной оспы или опоясывающего лишая только в том случае, если пациент одновременно тестируется на Вирус Простого Герпеса (ВПГ) и не демонстрирует значительного повышения антител к ВПГ. Высокая доля (до одной трети) лиц с первичной инфекцией ВПГ, которые переболели ВВО, показывает гетеротипичную реакцию антител с антигеном ВВО, что затрудняет дифференциальную диагностику между ВВО и ВПГ из-за отсутствия четких клинических данных (8,28,29,30,31). Определенный диагноз для пациентов, демонстрирующих существенное повышение антител для обоих ВВО и ВПГ, должен быть установлен путем выделения и/или прямой идентификацией вируса от телесного повреждения. Вирус, вызывающий инфекцию, не всегда демонстрирует большой рост антител. Дифференциальный диагноз может быть сделан на основании того факта, что антитела к вирусному типу отсутствуют или на очень низком уровне в образце, взятом на острой стадии заболевания, тогда, как антитела к вирусному гетеротипу уже присутствуют (8,33).
10. Отсутствие значительного роста антител не исключает возможности заражения ВВО.
11. Несмотря на то, что положительный результат с этим тестом можно считать свидетельством иммунитета, человек с отрицательным результатом может, по сути, также иметь иммунитет к ВВО. Корреляция отрицательных результатов испытаний, полученных данным тестом, и их отношение к защите от инфекции ВВО еще не были окончательно установлены. Если окончательное определение иммунитета требуется, все лица с отрицательными результатами должны быть повторно протестированы более чувствительным анализом, например метод люминесцентного антитела к антигену мембраны (ФАМА) (13).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемые значения при тестировании на антитело к ВВО могут варьироваться в зависимости от возраста пациента и климатических условий. В умеренном климате пик инфицирования ВВО приходится на зиму и весну, с самой высокой заболеваемостью в возрасте от 5 до 9 лет. В США 97.5 % здорового населения демонстрирует серологические признаки предшествующего заболевания ВВО. В тропическом и субтропическом климатах заболеваемость варицеллой случается позже в жизни с высшей пропорцией взрослых с серонегативным результатом к антителу к ВВО (23). IgG антитела обычно появляются в образцах сыворотки пациентов, инфицированных ВВО, через 4 дня после появления симптомов. В одном исследовании, 61 % этих пациентов имели IgG антитела в течение первых шести дней после появления симптомов экзантемы (34). Реакция антител у пациентов с опоясывающим лишаем обычно показывает рост. Большинство пациентов с рассеянным опоясывающим лишаем имеют высокие уровни антител к ВВО сразу же после появления локализованных поражений (39). Уровень антител является самым высоким обычно через 4-8 недель и остается высоким, по меньшей мере, от 6 до 8 месяцев. Вследствие чего, уровни антител могут снизиться в 2-3 раза, но остаются на низком уровне неопределенное время. Уровни антител после естественного инфицирования могут быть в 4-8 раз выше, чем после иммунизации (35).

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность

241 образец случайной выборки из крупных городских больниц и департамента здравоохранения, расположенные в восточной части Соединенных Штатов, были проанализированы с DAI BBO IgG ELISA и вторым коммерчески доступным ИФА тестом. Коммерчески доступный тест ИФА Varicellazoster IgG антител был использован во всех случаях с противоречивыми результатами. Результаты этого исследования представлены в таблице 1:

		DAI ИФА		Относительная чувствительность 99.4 % (160/161)	Относительная специфичность 97.0% (64/66)
		(+)	(-)		
ИФА и ИФА	+	160	1		
	-	2	64		

14 двусмысленных результатов, полученных обоими методами ELISA, (все DAI) были исключены из расчетов для относительной чувствительности и специфичности.

Воспроизводимость

Исследование было проведено с целью документирования типичных результатов точности анализа с ИФА тестом DAI BBO IgG. Среднее значение, SD, и C.V.% были рассчитаны как внутри так и между анализами, для внутритестовой точности на процент роста величины ISR.

Внутрисерийная точность

В Таблице 2 представлены результаты четырех (4) образцов, индивидуально пипетированных в группах по 20 (двадцать) в одном анализе.

	n	Среднее ISR	SD	CV, %
Сыворотка 1	20	2.91	0.202	7.0
Сыворотка 2	20	4.99	0.184	3.7
Сыворотка 3	20	0.84	0.154	18.3
Сыворотка 4	20	0.53	0.067	12.8

Межсерийная точность

Таблица 3 представляет резюме Межсерийных данных точности, полученных при повторных тестированиях четырех (4) образцов, индивидуально пипетированных в группах по пять (5) в течение 3 (трех) дней подряд.

	День 1	День 2	День 3	n	Среднее ISR	SD	CV, %
Сывор. 1	2.57	2.41	2.89	3	2.62	0.220	8.4
Сывор. 2	4.24	4.01	4.61	3	4.29	0.267	6.3
Сывор. 3	0.77	0.84	0.97	3	0.86	0.096	11.2
Сывор. 4	0.38	0.52	0.40	3	0.43	0.070	16.3

Точность между партиями

Таблица 4 демонстрирует краткую информацию о данных точности анализа от партии к партии, полученных при повторных тестированиях четырех (4) образцов, индивидуально пипетированных в группах по пять (5) с использованием 3 (трех) различных партий реагентов.

	Партия 1	Партия 2	Партия 3	n	Среднее ISR	SD	CV, %
Сывор. 1	2.61	2.99	2.95	3	2.85	0.202	7.0
Сывор. 2	4.26	5.03	3.96	3	4.42	0.470	10.6
Сывор. 3	0.28	0.37	0.49	3	0.38	0.089	23.7
Сывор. 4	0.14	0.13	0.14	3	0.14	0.010	7.1

Внутрисерийная точность для % Роста значения ISR

Внутрисерийная точность парных сывороток была определена путем проверки дубликатов 5 сыворотки (пронумерованных от 1 до 5), проверенных 5 раз и с использованием этих значений для имитации оценки значительного роста ISR парных сывороток. Типичные результаты 5 из 7 сывороток, использованных в этом исследовании, представлены ниже в таблице 5.

Парная сыворотка	n	Среднее % Роста ISR	SD	CV, %	Миним., %	Макс., %
2:5	25	11.5	3.1	27.2	5.6	18.3
2:3	25	40.6	6.3	15.5	31.4	54.2
1:4	25	124.0	6.2	5.0	112.6	137.3

Процентный рост ISR

Исследование проводилось с целью оценить процентный рост ISR между моделируемой парной сывороткой (острая и выздоравливающая формы), где значительное повышение уровня антител не ожидается. Десять сывороток разводили для анализа дважды, а затем оценивали как парные сыворотки. Результаты исследования показали расчетный процентный рост ISR между смоделированной парной сывороткой может быть 10,0% или менее. Второе исследование было проведено с использованием клинических образцов острой и выздоравливающей форм. Все образцы были протестированы в DAI ELISA и IFA. Результаты представлены в таблице 6.

Образец*	ISR	% Рост ISR	ИФА титр	Рост титра
1 Острый	1.34		512	
1 Выздоровл.	1.49	11	1024	2 раза
2 Острый	1.71		1024	
2 Выздоровл.	1.93	13	1024	

Перекрестная реактивность

Метод

Исследование было проведено для определения перекрестной реактивности DAI ветряной оспы IgG ELISA с четырьмя образцами, которые дали положительный результат на IFA для HSV-1 IgG (1), HSV-2 IgG (1), EBV IgG (3), CMV IgG (2), на антиядерные антитела (ANA) (2) и отрицательный для VZV IgG.

Результаты

Отрицательные DAI VZV IgG ИФА результаты для всех четырех образцов показывают отсутствие перекрестной реактивности DAI VZV IgG ELISA с другими членами семьи герпеса с ANA.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

ООО «ДИАМЕБ»
Ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: (0342) 775122
Тел/факс: (0342) 775612
E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua