



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

Тест для качественного определения IgM антител к вирусу ветряной оспы (ВВО) в сыворотке крови человека

Кат.№ 1413Z
Производитель: Diagnostic Automatic, Inc., (США)

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

Методика от 08-2012

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	Varicella IgM ИФА
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Непрямой ИФА: антигенное покрытие пластин
Диапазон обнаружения	Качественный: Положительный и отрицательный Контроль
Образец	5 мкл
Специфичность	97.0 %
Чувствительность	99.4 %
Общее время	~ 75 минут
Срок хранения	12-14 месяцев
Температура хранения	2-8 °C

*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 IgM 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 IgM как указателя на недавнее или текущее инфицирование ВВО.

ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА

Очищенные антигены ВВО нанесены на поверхность микролунок. Разведенный образец сыворотки пациента помещается в лунки, и характерное для ВВО IgM 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 IgM специфического антитела. Результаты считываются при помощи считывающего устройства микролунок и сравниваются параллельно с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Микролуночные полоски: микролунок, покрытые очищенным антигеном ВВО. (12 x 8 лунок)
2. Абсорбирующий раствор: Колпачок черного цвета. 1 пузырек (22 мл)
3. Калибратор: Оценочный фактор (f) указан на этикетке. Колпачок красного цвета. 1 пузырек (150 мкл)
4. Отрицательный Контроль: Диапазон указан на этикетке. Колпачок натурального цвета. 1 пузырек (150 мкл)
5. Положительный контроль: Диапазон указан на этикетке. Колпачок зеленого цвета. 1 пузырек (150 мкл)
6. Промывочный концентрат 10 x : 1 бутылочка (100 мл)
7. Ферментный конъюгат: Раствор красного цвета 1 пузырек (12 мл)

8. ТМБ хромогенный субстрат: Янтарная бутылочка. 1 пузырек (12 мл)
9. Стоп раствор. 1 пузырек (12 мл)

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при температуре 2-8 °C.
2. Всегда хранить микролунок тщательно запечатанными в упаковке с влагопоглотителем. Мы рекомендуем использовать все микролунок в течение 4 недель с момента вскрытия упаковки.
3. Реагенты остаются стабильными до окончания срока годности набора.
4. Не подвергать тестовые реагенты нагреванию. На допускать попадания прямых солнечных лучей и сильного света во время хранения и использования.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

1. Потенциально биологически опасные материалы: Калибратор и контроли содержат компоненты человеческого происхождения, которые были тестированы 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). 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, рекомендованного инструкциями Центров Контроля заболеваний/ Национальными Институтами Здоровья, "Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях." 1984.
2. Не пипетировать ртом. Не курить, не употреблять пищу и не пить в местах обращения с образцами и реагентами.
3. Компоненты набора предназначены для использования как интегральная единица. Не смешивать компоненты из разных партий.
4. Данный продукт содержит компоненты, содержащие азид натрия. Азид натрия может реагировать с со свинцовыми и медными трубами до образования взрывоопасных азидов. При уничтожении смыть с большим количеством воды.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Подготовить 1 часть промывочного буфера. Подготовить промывочный буфер методом добавления дистиллированной или деионизированной воды к 10 частям промывочного концентрата до окончательного объема в 1 литр.
2. Привести все образцы и реагенты набора к комнатной температуре (20-25 °C) и аккуратно перемешать.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместить требуемое количество покрытых полосок в держатель.
2. Приготовить растворы 1:40 добавлением 5 мкл тестовых образцов, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора к 200 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно перемешать.
3. Распределить 100 мкл разбавленной сыворотки, калибратор и контроли в соответствующие лунки. Для контрольного реагента, поместить 100 мкл абсорбирующего раствора в позицию лунки 1А. Постучать по держателю для удаления воздушных пузырей из раствора и тщательно перемешать. Инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.
4. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок. Повторить промывку 3 раза с промывочным буфером.
5. Добавить 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку и инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.
6. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок. Повторить промывку 3 раза с промывочным буфером.
7. Добавить 100 мкл ТМБ хромогенного субстрата в каждую лунку и инкубировать при комнатной температуре в течение 15 минут.
8. Добавить 100 мкл Стоп раствора для остановки реакции.
Убедиться в отсутствии воздушных пузырей в каждой лунке перед считыванием результатов.
9. Считать O.D. при 450 нм при помощи считывающего устройства микролунок.

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Для получения предельного (Cut-off) значения OD: Умножить значение OD калибратора на Оценочный фактор (f), указанный на этикетке калибратора.
2. Подсчитать Индекс IgM каждого определения делением значений OD каждого образца на полученное предельное значение OD.

Например:

Если значение Фактора (f) на этикетке = 0.4

Фактор (f) является непостоянным значением. Он может быть 0.35 или 0.5 или другой, указанный на этикетке Калибратора.

Полученное значение OD Калибратора = 1.100

Cut-off OD – 1.100 x 0.4 = 0.44 (При значении Индекса IgM = 1)

OD образца пациента = 0.580

Индекс IgM = 0.580 / 0.44 = 1.32 (Положительный результат)

OD образца пациента = 0.320

Индекс IgM = 0.320 / 0.44 = 0.73 (Отрицательный результат)

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Проведение теста считается действительным при соблюдении следующих условий:

1. Значение OD контрольного реагента против воздуха считывающего устройства микролунки должно быть меньше 0.250.
2. Если значение OD Калибратора меньше 0.250, тест считать недействительным и требуется повторное тестирование.
3. Индекс IgM Положительного и Отрицательного Контролей должны быть в диапазоне, указанном на этикетках.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: Индекс IgM со значением 0.90 или ниже является сероотрицательным к антителу IgM.

Сомнительный: Индекс IgM со значением 0.91-0.99 является двойственным. Образец должен быть протестирован повторно.

Положительный: Индекс IgM со значением 1.00 или выше.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемые значения могут варьироваться в зависимости от возраста пациента и климатических условий. В умеренном климате варицелла является болезнью, характерной для детского возраста. Пик заболеваемости приходится на период от Марта по Май. В США. 32 % заболеваемости ВВО случается в возрасте от 1 до 4 лет, и 50 % - от 5 до 9 лет. До 16-тилетнего возраста практически все население имеет анти-ВВО IgG. В тропическом и субтропическом климатах заболеваемость варицеллой происходит намного позже. IgM реакция наблюдается в 100 % первичного инфицирования ВВО и рост уровня IgM наблюдается от 50 до 80 % случаев заболевания опоясывающим лишаем, в зависимости от используемого метода. IgM антитела к ВВО в основном обнаруживаются через 2-5 дней после появления сыпи, достигая максимального уровня через 8-11 дней, опускаясь до уровней, которые не обнаруживаются, через несколько недель после появления сыпи.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**Точность:**

Точность анализа была определена при тестировании различных образцов сыворотки в 8-ми копиях в течение 3 дней. Результаты внутрисерийного и межсерийного анализов приведены ниже:

	Отрицательный	Низко положительный	Положительный
Внутрисерийный анализ	12.8 %	11.7 %	10.5 %
Межсерийный анализ	14.5 %	13.7%	12.3 %

Уровень распространения:

216 образцов от выбранных наугад бессимптомных доноров крови были протестированы с использованием "Diagnostic Automation" ИФА по определению IgM антител к ВВО. 12 были определены положительными (5.56 %) и 204 дали отрицательный результат (94.44 %). Уровень распространения может варьироваться в зависимости от многообразия факторов, таких как географическое положение, возраст, социоэкономический статус, раса, тип используемого теста, процедура забора и обращения с образцом, клиническая и эпидемиологическая история.

ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

1. Этот набор предназначен для определения IgM антитела в образцах пациента. Положительные результаты у новорожденных должны быть интерпретированы с осторожностью, так как материнские IgG пассивно передаются зародышу от матери до рождения. Анализы IgM в основном более полезны как индикатор инфекции у детей в возрасте до 6-ти месяцев.
2. 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 (7).
3. Результаты определения антитела единичного образца не должны быть использованы как помощь в диагностике недавней инфекции. Двойные образцы (при остром заболевании и при выздоровлении) должны быть взяты и протестированы параллельно для определения сероконверсии или значительного роста уровня антител.
4. 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.
5. Результаты анализа, проведенного с образцами сыворотки, взятой у пациентов с подавленным иммунитетом или недавним переливанием крови, должны быть интерпретированы с осторожностью.

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