

НАБІР РЕАГЕНТІВ АДЕНОВІРУС IgG ELISA

Adenovirus IgG

Каталог. №: EIA-3446

Дата випуску інструкції: 2013/01
Версія 8.0



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

1. ВСТУП

1.1 Призначення

Набір DRG Аденовірус IgG забезпечує матеріали для **якісного та напівкількісного** визначення антитіл класу IgG до Аденовірусу у сироватці.

Цей аналіз призначений тільки для діагностики in vitro.

1.2 Короткий опис та пояснення

Аденовіруси-це дволанцюгові ДНК-віруси без оболонки довжиною приблизно 60-90 нм. Капсид містить 252 капсомерів і показує ікосаедричну симетрію. Капсомери складаються з гексонів, пентонів та волокон (названих так на честь їх конфігурації), які відповідають за індукцію групових і типоспецифічних антитіл. У людини, визначають 34 імунологічно різні типи (серотипи).

Аденовіруси спочатку були виділені з аденоїдної тканини і мають певну спорідненість до лімфатичних залоз, де вони можуть залишатися латентними багато років. Вони також вражають дихальні шляхи, шлунково-кишковий тракт і кон'юнктиву. Інфекції Аденовірусу широко розповсюджені і поширені серед більшості інфекцій, що трапляються в дитячому віці. Заразне захворювання зазвичай є гострим і самообмеженим, але інфекції можуть бути тривалими і безсимптомними, можливо, залишаючись прихованими протягом дуже тривалого часу. Зима та весна - це сезони найвищих показників загальної аденовірусної інфекції, незалежно від географічного розташування та кліматичних умов. Епідемії можуть виникнути у перенаселених групах населення, наприклад, ГРЗ у військових групах, РСФ у басейнах та ЕКС у медичних закладах.

2. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Набір DRG Аденовірус IgG ELISA - це твердофазний імуоферментний аналіз (ELISA).

Мікротитрові лунки у вигляді твердої фази покриті інактивованим антигеном Аденовірусу 2 ступеня (штам Аденоїд 6).

Розведені зразки пацієнтів і готові до використання контролю піпетують у ці лунки. Під час інкубації специфічні антитіла Аденовірусу позитивних зразків та контролів зв'язані з іммобілізованими антигенами. Після етапу промивання для видалення незв'язаного зразка та контрольного матеріалу кон'юговані антитіла IgG проти людини, пероксидази хрому, додають у лунки. Під час другої інкубації цей кон'югат анти-IgG специфічно зв'язується з IgG антитілами, що призводить до утворення ферментно зв'язаних імуокомплексів.

Після другого етапу промивання для видалення незв'язаного кон'югату створені імунні комплекси (у разі позитивних результатів) виявляються шляхом інкубації з субстратом ТМБ та утворенням синього кольору. Синій колір стає жовтим зупиняючи реакцію ферментативного індикатора з сірчаною кислотою.

Інтенсивність цього кольору прямо пропорційна кількості Аденовірус-специфічних антитіл IgG у зразку пацієнта. Абсорбція при 450 нм зчитується за допомогою зчитувача мікротитрових планшетів ELISA.

3. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Цей набір призначений тільки для діагностики in vitro. Тільки для професійного використання.
- Перед початком аналізу, повністю та уважно прочитайте інструкцію. Використовуйте тільки дійсну версію інструкції-вкладиша, яка постачається з набором. Переконайтеся, що все зрозуміло.
- Всі реагенти цього тест-набору, які містять людську сироватку або плазму, були протестовані і виявлені негативними до ВІЛ I/II, HbsAg та HCV за допомогою схвалених FDA процедур. Проте, всі реагенти слід розглядати як потенційно небезпечні під час використання та утилізації.
- Уникайте контакту зі Стоп Розчином, який містить 0.2 моль/л H₂SO₄. Це може викликати подразнення шкіри або опіки.
- ТМБ субстрат має подразнюючу дію на шкіру та слизову. У випадку попадання в очі, промийте достатньою кількістю води, а шкіру

промийте з милом та великою кількістю води. Промийте забруднені об'єкти перед повторним використанням. При вдиханні - виведіть людину на свіже повітря.

- Мікропланшет містить відривні смужки. Не використані лунки потрібно зберігати при температурі від 2°C до 8°C у герметичній упаковці та використовувати з рамкою, яка постачається.
- Піпетування зразків та реагентів потрібно проводити якомога швидше в тій самій послідовності для кожного етапу.
- Використовуйте резервуари тільки для одного реагенту. Це особливо стосується резервуарів для субстрату. Використання резервуару для розчину субстрату, який до того, використовувався для розчину кон'югату може спричинити забарвлення розчину. Не виливайте реагенти назад у флакони так, як може відбутися забруднення реагенту.
- Ретельно перемішайте вміст мікропланшетних лунок, щоб забезпечити добрі результати аналізів. Не використовуйте повторно мікролунок.
- Не допускайте, щоб лунки висихали під час аналізу; додавайте реагенти негайно після завершення етапів промивання.
- Почекайте поки реагенти досягнуть кімнатної температури (21°C до 26°C) перед початком тестування. Температура може вплинути на показники поглинання аналізу. Проте, на значення для зразків пацієнта не впливатиме.
- Ніколи не піпетуйте ротом та уникайте контакту реагентів та зразків зі шкірою та слизовими оболонками.
- Не куріть, не їжте, не пийте та не користуйтеся косметикою у місцях обробки зразків або реагентів набору.
- Одягайте одноразові латексні рукавиці під час обробки зразків та реагентів. мікробне забруднення реагентів або зразків може дати неправильні результати.
- Обробка повинна здійснюватися у відповідності з процедурами, визначеними відповідними національними правилами безпеки щодо біологічної небезпеки.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, який вказаний на етикетці.
- Всі вказані обсяги повинні виконуватися відповідно до протоколу. Оптимальні результати тесту можна отримати тільки після використання відкаліброваних піпеток та мікропланшетного зчитувача.
- Не змішуйте або використовуйте компоненти з наборів з різними номерами лотів. Не рекомендується міняти лунки різних пластин навіть одного лоту. Набори можуть транспортуватися або зберігатися в різних умовах, а характеристики зв'язування пластин можуть дещо відрізнятись.
- Хімічні речовини та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до правил або вимог національної біологічної небезпеки.
- Щодо інформації про небезпечні речовини, які входять до набору зверніться до Паспорта безпеки даних. Паспорт безпеки даних для цього продукту доступний за запитом безпосередньо від DRG.

4. КОМПОНЕНТИ НАБОРУ

4.1 Реагенти, які постачаються

1. **Мікротитрові лунки**, 12 x 8 (відривні) смужки, 96 лунок; Лунки покриті антигеном Аденовірусу. (вкл. 1 тримач для смужок та 1 покривну фольгу).
2. **Розчинник для зразка***, 1 флакон, 100 мл, готовий до використання, жовтого кольору; pH 7.2 ± 0.2. Містить анти-людське антитіло класу IgG.
3. **Поз. контроль***, 1 флакон, 1.0 мл, готовий до використання; жовтого кольору, червона кришечка.
4. **Нег. Контроль***, 1 флакон, 2.0 мл, готовий до використання; жовтого кольору, жовта кришечка.
5. **Контроль Cut-off***, 1 флакон, 2.0 мл, готовий до використання; жовтого кольору, чорна кришечка.
6. **Ферментний кон'югат***, 1 флакон, 20 мл, готовий до використання, червоного кольору, антитіло до людського IgG кон'югованого до пероксидази хрому.
7. **Розчин субстрату**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, Тетраметилбензидин (ТМБ).
8. **Стоп Розчин**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, містить 0.2 моль/л H₂SO₄. Уникайте контакту зі стоп розчином. Це може спричинити подразнення шкіри та опіки.
9. **Промивний розчин***, 1 флакон, 30 мл (20X концентрований для 600 мл), pH 6.5 ± 0.1 див. «Підготовка реагентів».

*Містить нертутий консервант.

4.1.1 Необхідні матеріали, які не постачаються

- Мікропланшетний відкалібрований зчитувач (450/620 ± 10 нм) (напр. the DRG Instruments Microtiter Plate Reader)
- Відкалібровані змінні прецизійні мікропіпетки
- Інкубатор 37 °C
- Ручне або автоматичне обладнання для промивання лунок
- Вихровий міксер для пробірок
- Деіонізована або (свіжа) дистильована вода
- Таймер
- Абсорбуючий папір

4.2 Умови зберігання

За умови зберігання при температурі 2 - 8°C закриті реагенти залишаються реактивними до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.

Відкриті реагенти слід зберігати при температурі 2°C - 8°C. Мікротитрові лунки потрібно зберігати при температурі 2°C - 8°C. Якщо герметичний мішечок відкрили, то знову щільно закрийте його. Відкриті набори зберігають активність протягом двох місяців, за умови зберігання як описано вище.

4.3 Підготовка реагентів

Дозвольте всім реагентам та необхідній кількості смужок досягнути кімнатної температури перед використанням.

Промивний розчин

Розведіть *Промивний розчин 1+19* (напр. 10 мл + 190 мл) зі свіжою стерильною повторно дистильованою водою. Цей розбавлений промивний розчин має значення pH 7.2 ± 0.2.

Споживання: ~ 5 мл /визначення.

Кристали у розчині зникають під час нагрівання до 37°C на водяній бані.

Переконайтеся, що кристали повністю розчинилися перед використанням.

Розбавлений промивний розчин стабільний протягом 4 тижнів при температурі 2°C - 8°C.

4.4 Утилізація набору

Утилізацію набору слід робити відповідно до національних вимог. Спеціальну інформацію про цей продукт можете знайти у Паспорті безпеки матеріалів (див. розділ 13 цього паспорту безпеки).

4.5 Пошкодження тестових наборів

У разі виникнення серйозних пошкоджень тестового набору або компонентів, DRG має бути проінформований у письмовій формі не пізніше, ніж через тиждень після отримання набору. Сильно пошкоджені окремі компоненти не повинні використовуватися для тестового прогону. Їх потрібно зберігати, поки не буде знайдено остаточне рішення. Після цього їх слід утилізувати відповідно до офіційних правил.

5. ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА

У цьому аналізі можна використовувати сироватку. Не використовуйте гемолітичні, іктеричні або ліпемічні зразки.

5.1 Забір зразка

Сироватка:

Зробіть забір крові шляхом венепункції (напр. Sarstedt Monovette для сироватки), дозвольте згорнутися, та відділіть сироватку шляхом центрифугування при кімнатній температурі. Не центрифугуйте, поки кров повністю не згорнеться. Для зразків крові пацієнтів, які отримують антикоагулянтну терапію, потрібно більше часу для згортання.

5.2 Зберігання зразка

Зразки потрібно зберігати закритими до 3 днів при температурі 2°C - 8°C перед тестуванням. Для довготривалого зберігання, зразки потрібно заморозити при температурі -20°C тільки один раз. Розморожені зразки слід інвертувати кілька разів перед тестуванням.

5.3 Розбавлення зразків

До початку тестування кожен зразок пацієнта потрібно розбавити **1 + 1000** з *Розчинником для зразків*;

Крок 1: 10 мкл зразка + 1 мл Розчинника для зразка

Крок 2: 25 мкл попередньо розведеного зразка (крок 1) + 250 мкл Розчинника для зразка

Добре перемішати, залишити настоюватися протягом 15 хвилин, добре перемішати перед використанням.

Зверніть увагу: контролю готові до використання і не потрібно їх розбавляти!

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

6.1 Загальні зауваження

- **Дуже важливо довести всі реагенти, зразки та контролю до кімнатної температури перед початком тестового запуску!**
- Якщо тестування розпочато, то всі етапи слід пройти без перерви.
- Використовуйте новий одноразовий пластиковий наконечник для кожного стандарту, контролю або зразка, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Абсорбція – це функція часу інкубації та температури. Перед початком аналізу, рекомендується, щоб усі реагенти були готові, кришечки зняті, всі необхідні лунки закріплені на тримачі і т. д. Це забезпечить рівний час для кожного етапу піпетування без переривання.
- Як правило, ферментативна реакція лінійно-пропорційна до часу та температури.
- Щільно закрийте флакони з реагентами негайно після використання, щоб уникнути випаровування або мікробного забруднення.
- Щоб уникнути перехресного забруднення та помилково завищених результатів піпетуйте зразки пацієнта та внесіть кон'югат не розбризкуючи його, на дно лунок.
- Під час інкубації при температурі 37°C, накрийте мікротитрові смужки фольгою, щоб уникнути випаровування.

6.2 Процедура тестування

Перед початком аналізу, розведіть *Промивний розчин*, **підготуйте зразки пацієнтів, як описано в пункті 5.3**, і обережно встановіть **план розподілу та ідентифікації**, який надається у наборі для всіх зразків і контролів.

1. Оберіть необхідну кількість мікротитрових смужок або лунок та вставте їх у тримач.
Будь ласка, закріпіть:
1 лунка (напр. A1) Для бланк-субстрату
1 лунка (напр. B1) Для *Нег. контролю*
2 лунки (напр. C1+D1) Для *Контролю cut-off* і
1 лунка (напр. E1) Для *Поз. контролю*
Користувачеві залишається визначити контролю та зразки пацієнта у дублікаті.
2. Внесіть
100 мкл *Нег. Контролю* у лунку B1
100 мкл *контролю Cut-off* у лунки C1 та D1
100 мкл *Поз. контролю* у лунку E1 і
100 мкл кожного розведеного зразка з **новим одноразовим наконечником** у відповідні пробірки. Залишіть лунку A1 для бланк-субстрату!
3. Накрийте лунки фольгою, яка постачається з набором. Інкубуйте протягом **60 хвилин при температурі 37°C**.
4. Різко потрусіть вміст лунок.
Промийте пробірки **5 разів** розведеним *Промивним розчином (300 мкл на лунку)*. Переверніть лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки води.
Важлива примітка:
Чутливість та точність цього аналізу значно впливає на правильність проведення процедури промивання!
5. Внесіть **100 мкл *Ферментного Кон'югату*** у кожну лунку, **за винятком лунки A1**.
6. Інкубуйте протягом **30 хвилин при кімнатній температурі (20 °C до 25°C)**.
Не піддавати прямому впливу сонячного світла.
7. Різко потрусіть вміст пробірок.
Промийте пробірки **5 разів** розведеним *Промивним розчином* (300 мкл на лунку). Переверніть лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки води.
8. Додайте **100 мкл *Розчину Субстрату*** у всі лунки.
9. Інкубуйте протягом **15 хвилин при кімнатній температурі (20°C до 25°C) у темряві**.
10. Зупиніть ферментну реакцію, додавши **100 мкл *Стоп Розчину*** у кожну лунку. Будь-який синій колір, який утворився під час інкубації перетворюється на жовтий.
Примітка: високо позитивні зразки пацієнта можуть спричинити темний осад хромогену!
11. Зчитайте оптичну щільність при **450/620 нм** мікротитровим зчитувачем **протягом 30 хвилин** після додавання *Стоп Розчину*.

6.3 Вимірювання

Налаштуйте мікропланшет ELISA або мікросмужковий зчитувач **на нуль**, використовуючи **бланк-субстрат у лунці A1**.

Якщо з технічних причин - зчитувач ELISA не може бути відрегульований на нуль, за допомогою бланк-субстрату у лунці A1, відніміть значення

поглинання лунки A1 від усіх інших значень поглинання, виміряних для отримання надійних результатів!

Виміряйте абсорбцію всіх лунок при 450 нм і запишіть значення поглинання для кожного контролю та зразка пацієнта в плані розподілу та ідентифікації.

Рекомендується подвійне зчитування довжини хвилі з використанням 620 нм в якості референтної довжини хвилі.

Де потрібно **обчисліть середнє значення абсорбції** усіх дублікатів.

7. ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

7.1 Перевірка тестового запуску

Тестовий запуск можна вважати дійсним, якщо дотримано наступних критеріїв:

Бланк-субстрат у А1:	Значення абсорбції нижче ніж 0.100
Нег. Контроль у В1:	Значення абсорбції нижче ніж 0.200
Cut-off контроль у С1/D1:	Значення абсорбції між 0.350 – 0.900
Поз. контроль у Е1:	Значення абсорбції між 0.650 – 3.000

7.2 Обчислення:

Середнє значення абсорбції Cut-off контролю [CO]

Обчисліть середнє значення абсорбції двох (2) визначень Cut-off контролю (напр. у С1/D1).

Приклад: $(0.59 + 0.61)/2 = 0.60 = CO$

7.3 Інтерпретація

ПОЗИТИВНИЙ	Значення (середнє) абсорбції пацієнта більше ніж на 10% вище CO (Середнє значення ОЩ пацієнта > 1.1 x CO)
СІРА ЗОНА	Значення (середні) абсорбції пацієнта від 10% вище до 10% нижче CO повторний тест через 2 - 4 тижні - з новими зразками пацієнтів ($0.9 \times CO \leq$ Середнє значення ОЩ пацієнта $\leq 1.1 \times CO$) Результати у другому тесті знову у сірій зоні \Rightarrow НЕГАТИВНИЙ
НЕГАТИВНИЙ	Значення (середні) абсорбції пацієнта більше ніж на 10% нижче CO (Середнє значення ОЩ пацієнта < 0.9 x CO)

7.3.1 Результати у одиницях DRG [DU]

Значення (середнє) абсорбції пацієнта x 10 = [DRG Одиниці = DU]
CO

Приклад: $\frac{1.580 \times 10}{0.60} = 26 DU$

Інтерпретація результатів

Cut-off значення:	10 DU
Сіра зона:	9-11 DU
Негативний:	< 9 DU
Позитивний:	> 11 DU

8. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до державних і федеральних правил. Рекомендується використовувати контрольні зразки для забезпечення щоденної достовірності результатів. Використовуйте контролю на нормальному та патологічному рівнях.

Також, рекомендується, використовувати національні або міжнародні програми оцінки якості, щоб забезпечити точність результатів.

Якщо результати аналізу не відповідають встановленим допустимим діапазонам контрольних матеріалів, результати пацієнта повинні вважатися недійсними.

У такому випадку, будь ласка, перевірте наступні технічні області: пристрої для піпетування та синхронізації; фотометр, термін придатності реагентів, умови зберігання та інкубації, способи аспірації та промивання.

Після перевірки вищезазначених пунктів, якщо ви не виявили помилки, зверніться безпосередньо до дистриб'ютора або DRG.

9. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність аналізу негативної оцінки за відсутності конкретного аналізу. Становить 100%.

9.2 Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність аналізу позитивної оцінки при наявності специфічного аналізу. Вона становить 100%.

10 ОБМЕЖЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Бактеріальне забруднення або повторні цикли заморожування-розморожування зразка можуть впливати на значення абсорбції. У хворих з імунітетом і новонароджених серологічні дані мають обмежене значення.

11. ПРАВОВІ АСПЕКТИ

11.1 Надійність результатів

Випробування необхідно проводити точно згідно з інструкціями виробника. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (Доброї лабораторної практики) або інших застосованих національних стандартів та / або законів. Це особливо актуально для використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати, в процедурі тестування, достатню кількість контролів для перевірки точності та достовірності тесту.

Результати випробувань є дійсними, тільки якщо всі контролю знаходяться в межах вказаних діапазонів, і якщо всі інші параметри випробувань також входять до заданих специфікацій аналізу. У разі виникнення будь-яких сумнівів або занепокоєння звертайтеся до DRG.

11.2 Терапевтичні наслідки

Терапевтичні наслідки ніколи не повинні ґрунтуватися тільки на лабораторних результатах, навіть якщо всі результати випробувань узгоджуються з пунктами 11.1. Будь-який лабораторний результат є лише частиною загальної клінічної картини пацієнта. Тільки в тих випадках, коли результати лабораторних досліджень у прийнятній формі узгоджуються з загальною клінічною картиною пацієнта, слід вивести терапевтичні наслідки.

Сам результат тесту ніколи не повинен бути єдиним визначальним чинником для отримання будь-яких терапевтичних висновків.

11.3 Надійність

Будь-яка модифікація тестового набору та / або обміну або змішування будь-яких компонентів різних лотів від одного тестового набору до іншого може негативно вплинути на очікувані результати і обґрунтованість загального тесту. Такі зміни та / або обміни скасовують будь-які вимоги щодо заміни.

Претензії, подані внаслідок неправильного тлумачення результатів лабораторних досліджень згідно з пунктом 11.2, також є недійсними. Незалежно від того, у випадку будь-якої претензії, відповідальність виробника не повинна перевищувати вартість тестового набору. Виробник не несе відповідальності за будь-які пошкодження набору, що сталися під час транспортування.



ВИРОБНИК

DRG Інструментс ГмБХ
вул. Фраунберг 18, 35039
м. Марбург, Німеччина
Тел: +49(0)64 21/170 00
Факс: +49(0)64 21/170 050
www.drq-diagnostics.de
e-mail: drq@drq-diagnostics.de



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

