

НАБІР РЕАГЕНТІВ

ПАРВОВІРУС B19 IgG ELISA

Parvovirus B19 IgG ELISA

Каталог. №: EIA-3503

Дата випуску інструкції: 2019/03
Версія 16.0



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 ІФА DRG Антитіла IgG до Парвовірусу B19(рекомбінантний) містить матеріали для **якісного** та **напівкількісного** визначення антитіл класу IgG до Парвовірусу B19 у сироватці.

Цей аналіз призначений тільки для діагностики in vitro.

1.2 Короткий опис та пояснення

Парвовіруси - це кубічні одноланцюгові віруси ДНК приблизно 18-32 нм, у яких відсутні оболонки. Парвовірус B19 заражає лише людей, оскільки між парвовірусами тварин та B19 немає перехресної реакції, передача від домашніх тварин до людини неможлива. Парвовірус B19 є збудником інфекції *Erythema infectiosum*, так званої "п'ятої хвороби", легкої висипної хвороби, яка найчастіше зустрічається у дітей. Інфіковані люди заразні на ранньої стадії хвороби до появи висипу, тому у дорослих швидкість епідемії становить близько 60%. Приблизно у 20% дорослих та дітей, які інфіковані парвовірусом B19, відсутні будь-які симптоми. Однак, у людей, які були заражені вірусом, вироблений стійкий імунітет, який захищає їх від зараження в майбутньому.

Інфекція Парвовірусу B19 може спричинити серйозні захворювання у осіб із серповидноклітинною анемією або подібними типами хронічної анемії, а також у осіб, які мають проблеми з імунною системою (люди з лейкемією або раком, народжені з імунною недостатністю, які отримали трансплантацію органів або інфікованих ВІЛ). Іноді, (менше 5% всіх вагітних жінок, інфікованих парвовірусом B19) під час вагітності можуть розвинути серйозні ускладнення: ризик жовтяниці новонароджених.

2. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Даний набір є твердофазним ферментним імуноаналізом (ELISA).

Мікротитрові лунки в якості твердої фази покриті рекомбінантним антигеном Парвовірусу B19 (VP1 протеїни).

Розбавлені зразки пацієнта і **готові до використання контролю** піпетують в ці лунки. Під час інкубації специфічні до Парвовірусу B19 антитіла позитивних зразків та контролів зв'язуються з іммобілізованими антигенами. Після етапу промивання для видалення незв'язаного зразка і контрольного матеріалу, пероксидаза хрому, кон'югована з антилюдськими IgG- антитілами, вноситься в лунки. Під час другої інкубації цей анти-IgG кон'югат зв'язується специфічно з IgG-антитілами, що приводить до формування ферментно-зв'язаного імунного комплексу. Після другого промивання для видалення незв'язаного кон'югату сформовані імунні комплекси (у разі позитивного результату) виявляються за допомогою інкубації з ТМБ субстратом та розвитку блакитного кольору. Блакитний колір перетворюється на жовтий зупиненням ферментної реакції сірчаною кислотою.

Інтенсивність цього кольору прямо пропорційна кількості специфічних до Парвовірусу B19 IgG антитіл.

Абсорбція при 450 нм зчитується з використанням мікропланшетного рідера.

3. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Тільки для діагностичного використання in-Vitro. Тільки для професійного використання.
- Перед початком аналізу повністю та уважно прочитайте інструкції. Використовуйте дійсну версію інструкції, що входить у набір. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
- Всі реагенти цього набору, які містять людську сироватку або плазму, тестувалися і підтверджені FDA методиками як негативні до ВІЛ-1,2, поверхневого антигену гепатиту В і вірусу гепатиту С. Однак, під час використання та знищення всі реагенти слід розглядати як потенційно біологічно небезпечні.
- Уникайте контакту зі стоп розчином, що містить 0.2 моль/л H₂SO₄. Він може викликати подразнення шкіри і опіки.

- ТМБ субстрат має подразнюючу дію на шкіру та слизову оболонку. У разі можливого контакту мийте очі з великим обсягом води та шкіру милом і великою кількістю води. Промити забруднені предмети перед повторним використанням. При вдиханні вивести людину на свіже повітря.
- Мікропланшет містить відривні смужки. Невикористані лунки слід зберігати при температурі від 2 °C до 8 °C у герметичній упаковці з фольги та використовувати з рамкою, що постачається з набором.
- Піпетування зразків та реагентів повинно проводитися якомога швидше і в тій же послідовності для кожного етапу.
- Використовуйте ємності лише для окремих реагентів. Це особливо стосується ємностей для субстрату. Використання ємностей для дозування розчину субстрату, яка раніше використовувалася для розчину кон'югату, може забарвити розчин. Не зливайте реагенти в флакони, оскільки може виникнути забруднення реагенту.
- Ретельно змішуйте вміст мікропланшетних лунок, щоб забезпечити хороші результати випробувань. Не використовуйте повторно мікролунки.
- Не дозволяйте лункам висихати під час аналізу; додавайте реагенти відразу після завершення процедури промивання.
- Перш ніж почати випробування, дайте реагентам досягти кімнатної температури (21-26 °C). Температура вплине на показники абсорбції аналізу. Однак на значення для зразків пацієнта не впливатиме.
- Ніколи не піпетуйте ротом та не допускайте контакту з реагентами та зразками шкіри та слизових оболонок.
- Не курити, не їсти, не пити та не наносити косметику в місцях, де обробляються зразки чи реагенти.
- Під час обробки зразків та реагентів одягайте одноразові латексні рукавички. Мікробне забруднення реагентів або зразків може давати хибні результати.
- Обробка повинна здійснюватися у відповідності до процедур, визначених відповідним національним керівним принципом щодо біологічної безпеки або регулюванням.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, як зазначено на етикетках упаковки.
- Всі вказані обсяги повинні дотримуватись відповідно до протоколу. Оптиміальні результати випробувань можуть бути отримані тільки при використанні каліброваних піпеток та мікропланшетних зчитувачів.
- Не змішуйте та не використовуйте компоненти з наборів з різними номерами лотів. Рекомендується не обмінювати лунки різних пластин навіть однієї партії. Набори, можливо, були відправлені або зберігаються в різних умовах і характеристики зв'язування пластин можуть призвести до дещо інших результатів.
- Хімічні речовини та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного керівництва або правил щодо біологічної безпеки.
- Інформацію про небезпечні речовини, включені в набір, можна отримати з Паспортів безпеки хімічної продукції. Паспорти безпеки хімічної продукції для даного продукту доступні за запитом безпосередньо від DRG.

4. РЕАГЕНТИ

4.1 Реагенти, що постачаються

- Мікротитрові лунки**, 12x8 (роздільні) смужки, 96 лунок; лунки покриті рекомбінантним антигеном Парвовірусу B19 (VP1-s протеїн). (вкл. 1 тримач для смужок і 1 плівку для накривання).
- Розчин для розведення зразків***, 1 флакон, 100 мл, готовий до використання, жовтого кольору; pH 7.2 ± 0.2.
- Позитивний контроль***, 1 флакон, 1.0 мл, готовий до використання, жовтого кольору, червоний ковпачок.
- Негативний контроль***, 1 флакон, 2.0 мл, готовий до використання, жовтого кольору, жовтий ковпачок.
- Cut-off контроль***, 1 флакон, 2.0 мл, готовий до використання, жовтого кольору, чорний ковпачок.
- Ферментний кон'югат***, 1 флакон, 20 мл, готовий до використання, червоного кольору, антитіла до людського IgG, кон'юговані з пероксидазою хрому.
- Розчин субстрату**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, ТМБ.
- Стоп-розчин**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, містить 0.2 моль/л H₂SO₄. Уникайте контакту зі стоп-розчином. Може викликати роздратування шкіри і опіки.
- Промивний розчин***, 1 флакон, 30 мл (концентрація 20x для 600 мл); pH 6.5 ± 0.1. Див. "Підготовка реагентів".

*Містить не ртутний консервант.

4.1.1 Необхідні матеріали та обладнання, які не постачаються

- Мікротитровий відкалібрований рідер для планшетів (450/620 нм ± 10 нм).
- Відкалібровані мікропіпетки змінного об'єму.
- Інкубатор 37°C
- Ручне або автоматичне обладнання для промивання лунок.
- Вортексний міксер.
- Дистильована або деіонізована вода.
- Таймер.
- Абсорбуючий папір.

4.2 Умови зберігання

За умови зберігання при температурі 2-8 °С, реактивність реагентів буде збережена до дати закінчення терміну придатності. Не використовуйте після закінчення терміну придатності.

Відкриті реагенти потрібно зберігати при температурі 2-8 °С. Мікротитрові лунки слід зберігати при температурі від 2°C до 8°C. Після відкриття мішечка із фольги треба знову його герметично закрити. Відкритий набір стабільний протягом двох місяців за умови зберігання, як описано вище.

4.3 Підготовка реагентів

Перед використанням доведіть всі реагенти та потрібну кількість стріпів до кімнатної температури.

Промивний розчин

Розвести Промивний Розчин 1+19 (наприклад, 10 мл + 190 мл) свіжою, без бактерій повторно дистильованою водою. Цей розведений Промивний Розчин має значення рН 7.2 ± 0.2.

Використання: ~ 5 мл / визначення.

При нагріванні на водяній бані до температури 37 °С кристали в розчині зникають. Впевніться, що кристали повністю розчинилися перед використанням.

Розведений Промивний Розчин стабільний протягом 4 тижнів при температурі 2-8 °С.

4.4 Утилізація набору

Утилізувати набір потрібно відповідно до національних вимог. Спеціальна інформація для цих продуктів вказана в Паспорті безпеки хімічної продукції.

4.5 Пошкодження набору

При пошкодженні набору чи його компонентів необхідно повідомити в письмовій формі виробника впродовж одного тижня після отримання виробу. Сильно пошкоджені компоненти не можна використовувати для проведення тестів. Їх слід зберігати до того часу, поки не буде вирішено цю проблему. Після цього, їх слід утилізувати відповідно до офіційних правил.

5. ЗАБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Для аналізу можна використовувати сироватку. НЕ використовувати гемолізовані, іктеричні або ліпемічні зразки.

Зауваження: зразки, що містять азид натрію, не можна використовувати в аналізі.

5.1 Забір зразків

Сироватка:

Зберіть кров венепункцією (наприклад, Sarstedt Monovette для сироватки), дайте їй згуститися і відокремте сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Не центрифугуйте до повного згортання крові. Пацієнти, які проходять антикоагуляційну терапію, можуть вимагати додаткового часу для згущення крові.

5.2 Зберігання зразків

Зразки потрібно зберігати закритими до 24 годин при температурі від 2°C до 8 °С перед проведенням аналізу. Для більш тривалого періоду зберігання їх потрібно заморозити при - 20 °С. Розморожені зразки потрібно кілька разів інвертувати перед проведенням аналізу.

5.3 Розведення зразків

Перед аналізом кожен зразок пацієнта спочатку слід розбавити 1+100 з Розчинником для зразків, напр., 10 мкл зразка + 1 мл Розчину для зразків. **Добре змішати, залишити на 15 хвилин і знову добре перемішати.**

Увага: Контролі готові до використання і їх не треба розводити!

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

6.1 Загальні зауваження

- **Доведіть всі реагенти до кімнатної температури перед початком дослідження.**
- Після початку дослідження всі етапи слід виконувати без затримки.

- Використовуйте нові насадки для піпеток для кожного стандарту, контролю або зразка, щоб уникнути перехресної реакції.
- Абсорбція залежить від температури і часу інкубації. Тому, перед початком дослідження, необхідно прослідкувати, щоб все було готово: ковпачки зняті, реагенти приготовлені, лунки закріплені у тримачі і таке інше. Це дозволить проводити всі кроки за однакові інтервали часу.
- Як правило, ферментативна реакція лінійно пропорційна часу і температурі.
- Пробірки з реагентом щільно закривати відразу після використання, щоб уникнути випаровування і мікробного забруднення.
- Щоб уникнути перехресного забруднення і хибно завищених результатів, піпетуйте зразки та розподіляйте кон'югат без бризок точно на дно лунки.
- Щоб уникнути випаровування, під час інкубації, мікротитрові смужки потрібно накрити фольгою.

6.2 Процедура дослідження

Перед початком проведення аналізу, необхідно розбавити *Розчин для Промивання, приготуйте зразки пацієнтів як описано в п. 5.3*, добре перемішайте перед піпетуванням. Уважно складіть для всіх зразків і контролів **план розподілу та ідентифікації**, вкладений в набір.

1. Оберіть необхідну кількість мікротитрових смужок або лунок та вставте їх у тримач.

Додайте принаймні:

1 лунку	(напр., A1)	для негативного контролю,
2 лунки	(напр., B1 + C1)	для Cut-off Контролю та
1 лунку	(напр., D1)	для Позитивного Контролю.

На розсуд користувача можна ставити зразки і контролі в дублях.

2. Внести:
100 мкл Негативного Контролю в лунку A1
100 мкл Cut-off контролю в лунки B1 і C1
100 мкл Позитивного Контролю в лунку D1 і
100 мкл кожного розведеного зразка з новими одноразовими наконечниками у відповідні лунки.
3. Накрити лунки фольгою, яка постачається в наборі. Інкубувати **60 хвилин при 37 °С**.
4. Промити лунки **5 разів** розбавленим *Розчином для Промивання (300 мкл/лунку)*. Різко витрусити лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки рідини.
Примітка:
Чутливість і точність даного аналізу в значній мірі залежать від правильності виконання процедури промивання!
5. Додати **100 мкл Ферментного Кон'югату** в усі лунки **крім A1**.
6. Інкубувати **30 хвилин при кімнатній температурі (20-25 °С)**. *Не піддавати впливу прямого сонячного світла!*
7. Промити лунки **5 разів** розбавленим *Розчином для Промивання (300 мкл/лунку)*. Різко витрусити лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки рідини.
8. Додати **100 мкл Розчину Субстрату** в усі лунки.
9. Інкубувати **рівно 15 хвилин при кімнатній температурі (20-25 °С) в темряві**.
10. Зупинити ферментативну реакцію шляхом додавання **100 мкл Стоп-Розчину** в кожну лунку. Будь-яке блакитне забарвлення, що проявилось під час інкубації, перетворюється на жовте.
Примітка: високо-позитивні зразки пацієнтів можуть мати темний осад хромогену!
11. Зчитати оптичну щільність при **450/620 нм** за допомогою мікропланшетного зчитувача **на протязі 30 хвилин** після додавання *Стоп Розчину*.

6.3 Вимірювання

Виміряти абсорбцію у всіх лунках при **450 нм** і записати значення абсорбції для кожного контролю та зразка пацієнта в схему.

Подвійна довжина хвилі - рекомендується зчитувати при 620 нм як референтній довжині хвилі.

Де можливо, розрахувати **середнє значення абсорбції** всіх дублів.

7. РЕЗУЛЬТАТИ

7.1 Надійність постановки аналізу

Постановка аналізу може вважатися дійсною за дотримання таких умов:

Негативний контроль в A1:	Значення абсорбції менше 0.200
Cut-off контроль в B1/C1:	Значення абсорбції між 0.350 – 0.850
Позитивний контроль D1:	Значення абсорбції між 0.650 – 3.000

7.2 Обчислення

Середнє значення абсорбції Cut-off контролю [CO]

Обчислити середнє значення абсорбції 2 Cut-off Контрольних визначень (напр., у B1/C1).

Приклад: $(0.40 + 0.45) \div 2 = 0.425 = CO$

7.3 Інтерпретація

ПОЗИТИВНИЙ

(Середні) значення абсорбції зразків пацієнта на 20% більше на 20% , ніж CO
(Середнє значення ОЩ пацієнта > 1.2 x CO)

СИРА ЗОНА

(Середні) значення абсорбції пацієнтів від 20% вище до 10% нижче CO
повторити аналіз через 2-4 тижні - із **новими** зразками пацієнтів
($0.90 \times CO \leq$ Середнє значення ОЩ пацієнта $\leq 1.2 \times CO$)
Результат другого аналізу знову в «сірій зоні» \Rightarrow **НЕГАТИВНИЙ**

НЕГАТИВНИЙ

середні значення абсорбції пацієнта більше ніж на 10% нижче CO
(Середнє значення ОЩ пацієнта < 0.90 x CO)

7.3.1 Результати в DRG одиницях [DU]

Середнє значення абсорбції пацієнта x 10 = [Одиниці DRG = DU]
CO

Приклад: $\frac{1.210 \times 10}{0.47} = 25 DU$

Інтерпретація результатів

Значення Cut-off: 10 DU
Сіра зона: 9 - 12 DU
Негативний: < 9 DU
Позитивний: > 12 DU

8. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Рекомендується використовувати контролю згідно з державними і місцевими нормами. Використання контролю дає можливість щоденної оцінки достовірності результатів. Використовуйте контролю як нормального, так і патологічного рівнів.

Також, рекомендується використовуватись національні і міжнародні програми оцінки якості для підтвердження достовірності результатів.

Якщо результати аналізу не попадають в установленні межі матеріалів контролю, результати являються не достовірними.

В такому випадку, перевірте наступні дані: пристрої піпетування і вимірювання часу; фотометр; дати придатності реагентів, умови зберігання та інкубації, методи аспірації і промивання.

Якщо не знайдено помилки, зверніться до Вашого постачальника.

9. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 Діагностична Специфічність

Діагностична специфічність визначається як можливість аналізу отримувати негативний результат за відсутності специфічного аналіту.

Вона становить 100 %.

9.2 Діагностична Чутливість

Діагностична чутливість визначається як можливість аналізу отримувати позитивний результат в присутності специфічного аналіту.

Вона становить 98 %.

10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Бактеріальне забруднення або повторювання циклів заморожування/розморожування зразка можуть вплинути на значення абсорбції. У пацієнтів з ослабленим імунітетом та новонароджених серологічні дані мають лише обмежене значення.

11. ПРАВОВІ АСПЕКТИ

11.1 Достовірність результатів

Дослідження необхідно проводити точно у відповідності з інструкцією виробника. Також, користувачу необхідно слідувати правилам техніки безпеки, національним стандартам та законам. Особливо це стосується використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати в процедуру тестування достатню кількість контролів для перевірки точності та правильності тестування.

Результати тесту вважаються достовірними, якщо контролю знаходяться в указаних межах і якщо інші параметри дослідження, також відповідають специфікаціям аналізу. У випадку сумнівів, звертайтеся до компанії DRG.

11.2 Терапевтичні заключення

Терапевтичні заключення ніколи не повинні базуватися лише на лабораторних результатах, навіть якщо всі результати випробувань узгоджуються з елементами, як зазначено у пункті 11.1. Будь-який лабораторний результат - це лише частина загальної клінічної картини пацієнта. Діагноз інфекційного захворювання не повинен встановлюватися на основі єдиного результату тесту. Для точного

діагнозу, слід врахувати клінічну історію, симптоматику, а також серологічні дані. Якщо лабораторні дані повністю збігаються з клінічною картиною, можна встановлювати терапевтичні висновки для пацієнта.

Результат тесту ніколи не повинен бути єдиним визначальним фактором для отримання будь-яких терапевтичних висновків.

11.3 Відповідальність

Будь-які зміни дослідження чи зміна компонентів різних лотів може негативно відобразитись на результатах дослідження. Такі зміни та модифікації не можуть бути приводом для заміни набору.

Претензії, щодо неправильного трактування результатів лабораторії з пункту 11.2, також є недійсними. Незалежно від того, у випадку будь-якої претензії відповідальність виробника не перевищує вартість тестового набору.

Виробник не несе відповідальності за будь-які пошкодження 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 21/17 00 50
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

