

АНТИТІЛА IgG ДО ВІРУСУ КРАСНУХИ, ЛІКВОР

Anti-Rubella Virus IgG Liquor

Кат. №: **ORG 919GL**

Дата випуску інструкції: **2018-07-26**

Версія **4**



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

ПРИЗНАЧЕННЯ

Даний набір являє собою систему тестування на основі ELISA, призначену для порівняльно-кількісного вимірювання антитіл класу IgG до вірусу краснухи в зразках сироватки або плазми людини та у цереброспінальній рідині (ЦСР). Цей аналіз призначений для виявлення синтезу IgG антитіл у центральній нервовій системі. Аналіз не підходить для виявлення антитіл IgG до вірусу краснухи тільки в сироватці або плазмі. Цей виріб призначений тільки для професійного використання *in vitro* діагностики. Цей аналіз застосовується для виявлення синтезу IgG антитіл у центральній нервовій системі, що свідчить про неврологічні ускладнення інфекцією краснухи, наприклад, енцефаліт. При хронічних захворюваннях із залученням ЦНС, наприклад розсіяний склероз (МС) або вовчак з неврологічними проявами, підвищений індекс антитіл до вірусу кору, до вірусу-краснухи та/або анти-*varicella zoster* може бути виявлений в ЦСР. Ця реакція MPZ виявляється приблизно у 90% хворих на MS.

СИМВОЛИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ

	Медицинський пристрій для діагностики <i>in vitro</i> Виробник		Alegria® Тест Смужки
	Каталоговий номер		Промивний буфер
	Містить достатньо для 24 випробувань Код партії		Рідинна система
	Обмеження температури		Готовий до використання
	Звернутися до інструкції з використання		
	Не піддавати впливу сонячних променів		
	Не використовувати повторно		
	Дата виробництва		
	Знак ЕС відповідно до 98/79/ЕС		

919GL_4 Електронна інструкція з використання: версія

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Очищені інактивовані частинки вірусу краснухи (штам HPV-77) пов'язані з реакційними лунками.

Аналіз Alegria® включає в себе 8-лункові мікросмужки зі штрих-кодами, які називаються Тест-смужками Alegria®. Кожна смужка призначена для аналізу одного зразка пацієнта. Набір складається з повного комплексу реагентів. Сюди входять кон'югант, ферментний субстрат, буфер для зразків і специфічний тестовий контроль. Крім того, кожна смужка має дві лунки, покриті антигеном, які служать в якості реакційних лунок для контролю та зразка пацієнта.

Цереброспінальна рідина та відповідний зразок сироватки від одного пацієнта повинен тестуватися в одному режимі. Для того, щоб проводити тестування паралельно, потрібні дві смужки - одна для ЦСР, а інша для сироватки.

Визначення ґрунтується на непрямій ферментно-пов'язаній імунній реакції з наступними кроками: Антитіла, присутні в позитивних зразках, зв'язуються з антигеном, нанесеним на поверхню двох реакційних лунок, утворюючи комплекс антиген-антитіло. Після інкубації, на першому етапі промивання видаляються непов'язані і неспецифічно пов'язані молекули. Послідовно доданий ферментний кон'югант зв'язується з іммобілізованим комплексом антитіло-антиген. Після інкубації під час другої промивки видаляється незв'язаний ферментний кон'югант. Додавання розчину ферментного субстрату призводить до гідролізації і розвитку кольору під час інкубації. Інтенсивність синього кольору відповідає концентрації

комплексу антитіло-антиген і може бути виміряна фотометрично при 650 нм.

Alegria® Тестова Смужка заснована на запатентованій SMC®-технології (Sensotronic Memorized Calibration): інформація про аналіз, аналіз та його оцінка, а також термін придатності для конкретної партії містяться на штрих-коді, зазначеному на кожній тест-смужці Alegria®.

Тест-смужку Alegria® можна використовувати з діагностичним інструментом Alegria® - повністю автоматизованим аналізатором з довільним доступом. За допомогою SMC®-Технології дані, закодовані на штрих-коді, передаються від тест-смужки Alegria® до приладу та аналіз автоматично обробляється і оцінюється. Прилад зчитує дату терміну придатності і відкидає подальшу обробку, якщо вищий термін придатності тест-смужки Alegria®.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Всі реагенти набору призначені тільки для діагностики *in vitro*.
- Компоненти, що містять людську сироватку, були протестовані методами, схваленими ІФА, та визнані негативними для HBsAg, HCV, ВІЛ-1 та ВІЛ-2. Жоден тест не може гарантувати відсутність HBsAg, HCV, HIV1 або HIV2, тому всі реагенти на основі людської сироватки в цьому наборі повинні бути оброблені так, якби вони здатні передавати інфекцію.
- Бичачий сироватковий альбумін (BCA), використаний в компонентах, був протестований на BSE і виявився негативним.
- Уникайте контакту із субстратом ТМБ (3,3', 5,5' - Тетраметилбензидином).
- Системи рідини містить кислоту, класифікація є безпечною. Уникайте контакту зі шкірою.
- Контроль, буфер для зразків і промивний буфер містять азид натрію 0,09% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.
- Ферментний кон'югант, контроль і буфер для зразків містять ProClin 300 0.05% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.

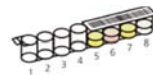
Під час обробки всіх реагентів, зразків і сироватки дотримуватися існуючих правил лабораторної безпеки і належної лабораторної практики:

- Заходи першої допомоги: При попаданні на шкіру, негайно ретельно промити водою з милом. Зняти забруднений одяг і взуття і вимити перед повторним використанням. Якщо рідина системи вступає в контакт зі шкірою, ретельно промийте водою. Після контакту з очима ретельно промити відкрите око проточною водою щонайменше протягом 10 хвилин. Зверніться до лікаря, якщо це необхідно.
- Особиста безпека, захисне спорядження і надзвичайні заходи: Дотримуватися правил техніки безпеки лабораторії. Уникайте контакту зі шкірою та очима. Не ковтайте. Не піпуйте ротом. Не їжте, не пийте, не куріть і не наносіть макіяж в тих місцях, де знаходяться зразки або реагенти набору. При розливанні зберіть інертним матеріалом і утилізуйте.
- Засоби індивідуального захисту: Одягайте захисні рукавички з нітрильного каучуку або натурального латексу. Носіть захисні окуляри. Застосовуються відповідно за призначенням.
- Умови, яких слід уникати: Так як розчин субстрату є світлочутливим, зберігати смужки Alegria® в темряві.
- Для утилізації лабораторних відходів дотримуватися національного або регіонального законодавства.

Дотримуйтеся рекомендацій для виконання контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролю і/або об'єднаних сироваток.

ВМІСТ НАБОРУ

24 ORG 919GL Достатньо для проведення 24 аналізів
Тестові смужки
Alegria 24 Тест-смужки Alegria® є модулями з 8 лунок кожна, які складаються з:



- Лунки 1+2: Порожні і без нанесення (лунки для розведення зразків)
- Лунки 3+4: Вкриті антигеном (реакційні лунки)
- Лунка 5: Контроль; жовтого кольору; містить специфічні антитіла, PBS, BSA, миючий засіб, консервант азида натрію 0,09% і ProClin 300 0.05%.
- Лунка 6: Ферментний кон'югант; світло-червоний; містить антилюдські IgG антитіла, мічені HRP; PBS, BSA, миючий засіб, консервант ProClin 300 0.05%.
- Лунка 7: Буфер для зразків: жовтий; містить PBS, BSA, миючий засіб, консервант азида натрію 0,09% і ProClin 300 0.05%.
- Лунка 8: ТМБ субстрат: прозорий; містить 3,3', 5,5' - Тетраметилбензидин.

Штрих-код: **Rub SerCSF** На роздрукуванні: **Rube-L-G IgG**

1 x 20 мл	Промивний буфер, що містить Трис, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09%; 50 x концентрат
1 x 2.5 мл	Системна рідина, містить кислоту; 1000 x концентрат
1	Alegria® Інструкція з використання: Alegria® Міні-DVD
1	Сертифікат аналізу

ORG 919GL	1:8	10 мкл + 70 мкл	30 мкл
KPACHУXA IGG	1:16	10 мкл + 150мкл	

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- Зберігати набір при 2 - 8 °C у темряві.
- Не піддавати реагенти впливу тепла, сонця або сильного світла в перебігу зберігання та використання.
- Зберігати Alegria® Тестові смужки в герметичному пакеті з осушувачем.
- Термін придатності закритого набору становить 15 місяців від дати виготовлення. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності набору. Дивитись етикетки для окремих партій.
- Розведений Промивний Буфер та Системна Рідина стабільні щонайменше 30 днів при 2-8 °C. Рекомендується використання в той же день.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

- Вихровий міксер
- Піпетки на 10 мкл, піпетки для змінних обсягів 10-100 мкл і 100-1000мкл
- Мірний циліндр на 1000 мл і 2500 мл
- Дистильована або деіонізована вода

ПРОЦЕДУРНІ ЗАУВАЖЕННЯ

- Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну придатності.
- Всі матеріали слід привести до кімнатної температури (20-28°C) перед використанням.
- Для запобігання забруднення міняйте наконечники піпетки між зразками.

ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ І ОБРОБКА ЗРАЗКА

- Зразок крові та ЦСР слід взяти у пацієнта у той самий день.
- Збирайте зразки цільної крові, використовуючи прийнятні медичні методи, щоб уникнути гемолізу.
- Дайте можливість крові згуститися і відокремте сироватку центрифугуванням.
- Зразки повинні бути чистими і не гемолізованими.
- Зразки повинні зберігатися в холодильнику при 2-8 °C до 5 днів або при -20 °C до шести місяців.
- Уникайте повторного заморожування і розморожування зразків. Це може призвести до втрати активності антитіла.
- Не рекомендується тестування інактивованої теплом сироватки.

ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

- ЦСР та зразки сироватки або плазми повинні мати аналогічну концентрацію білка для цього аналізу.
- Якщо, ЦСР набагато нижче концентрована ніж сироватка або плазма, необхідне попереднє розведення зразків сироватки.
- Для того, щоб отримати значення в межах вимірювального діапазону, попереднє розведення зразків сироватки або плазми може відрізнитися для кожного параметру в залежності від серопревалентності. Навіть зразки ЦСР можна попередньо розвести або використати в меншій кількості, якщо очікується висока концентрація антитіл.
- Рекомендується попередньо розводити зразки сироватки або плазми з готовим до використання Промивним Буфером. Підготовка зразка залежить від панелі зразка і може відрізнитися від лабораторії до лабораторії. Емпіричні значення для попередніх розведень (сироватка/плазма) та об'єм (ЦСР):

	попереднє розведення	сироватка/плазма + промивний буфер	ЦСР
ORG 901GL EBV (VCA) IGG	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150мкл	30 мкл
ORG 905GL HSV-1/2 IGG	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150мкл	30 мкл
ORG 909GL KIP IGG	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150мкл	30 мкл
ORG 911GL BORRELIA IGG	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 911ML BORRELIA IGM	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 914GL VZV IGG	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150мкл	30 мкл

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер

Розвести вміст концентрату Промивного буфера (50x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням. Внести розбавлений промивний буфер в контейнер для реагенту інструменту. Якщо проводиться тільки один аналіз на день, ми рекомендуємо вносити тільки 500 мл розведеного Промивного Буфера.

Системна рідина

Розвести вміст концентрату Системної Рідини (1000x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 2500 мл перед використанням. Перенесіть розбавлену Системну Рідину в контейнер для реагенту інструменту.

Тестові смужки

Дістаньте необхідну кількість Alegria® тест-смужок з упаковки і доведіть їх до кімнатної температури (20-28 °C). Не знімайте покриття з порожніх лунок, поки ви не готові розпочати аналіз.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Тест-смужки Alegria® з технологією SMC® використовуються з діагностичним інструментом Alegria®. Детальну інформацію про роботу з приладом можна знайти в інструкції щодо застосування.

1) Зніміть покриття з порожніх лунок 1-4 на тест-смужках Alegria®.

Не знімайте покриття з лунок 5-8 з нанесеним на них штрих-кодом.

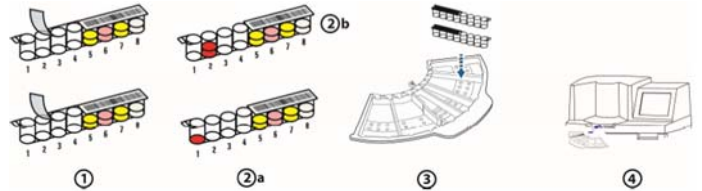
Використовуйте одну тест-смужку Alegria® для ЦСР і одну для сироватки. Окрема обробка:

(2a) Смужка для сироватки: піпетуйте 10 мкл попередньо розбавленої сироватки або плазми на дно лунки 1.

(2b) Смужка для ЦСР: піпетуйте 30 мкл нерозбавленої ЦСР на дно лунки 2.

3) Помістіть смужку в SysTray.

4) Розмістіть завантажений SysTray в правильному положенні на приладі Alegria® і почніть роботу. Всі подальші кроки будуть зроблені автоматично. Проведення аналізу вважається завершеним, коли прилад починає друкувати результати.



КАЛІБРУВАННЯ

Ця аналізована система відкалібрована у відносно довільних одиницях, тому що для цього аналізу немає міжнародної референтної підготовки.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Діапазон вимірювання

Діапазон розрахунку цього аналізу Alegria®: 10-200 Од/мл

Межа виявлення

Найнижча кількість виявлених антитіл становить: 10 Од/мл

Лінійність

Зразки пацієнтів, що містять високий рівень специфічного антитіла, серійно розбавляли в промивному буфері, щоб продемонструвати динамічний діапазон аналізу.

Відтворюваність

Точність в межах тесту: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 20 визначень в одному аналізі. Результати для точності в межах аналізу наведені в таблиці нижче.

Між серійна точність: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 2 визначень в 5 різних аналізах. Результати для виконання до запуску точності наведені в таблиці нижче.

В середині аналізу		
Зразок	Середнє значення Од/мл	КВ [%]
1	36.1	9.2
2	48.2	8.5
3	167.7	6.7

Між аналізами		
Зразок	Середнє значення Од/мл	КВ [%]
1	36.6	9.1
2	49.3	7.7
3	181.2	6.8

Інтерферуючі речовини

Не спостерігалось інтерференції при тестуванні зразків з гемолізом (до 1000 мг/дл) або ліпемічною сироваткою (до 3 г/дл тригліцеридів) або плазмою, або білірубіном (до 40 мг/дл) який містить сироватку або плазму. Не спостерігалось будь-якого впливу при використанні антикоагулянтів (Цитрат, ЕДТА, Гепарин).

Ніяких перешкод не спостерігається при вірусних інфекціях з HSV, EBV, паровірусом В19, краснухою або паротитом.

Не спостерігається жодних інтерференційних ефектів у ревматичних захворюваннях, пов'язаних з підвищеними титрами ревматоїдних факторів або антинуклеарних антитіл.

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

За допомогою технології SMC® (Sensotronic Memorized Calibration) всі дані тесту передаються системі через індивідуальні штрих-коди на тестовій стрічці Alegria®. Розрахунок результатів буде виконано автоматично.

РОЗРАХУНОК ІНДЕКСУ АНТИТІЛА (IA)

Для розрахунку індексу антитіла потрібно провести аналіз на вміст альбуміну та загального IgG у сироватці та в ЦСР за допомогою альтернативних методів тестування, які не входять до складу тест-набору. Концентрація загального IgG та альбуміну повинна вимірюватися методами, які широко використовуються в неврологічних лабораторіях.

Як правило, застосування нерозбавленого ЦСР та 1:4 попередньо розведених зразків сироватки в 1: 4, як це було рекомендовано раніше, буде адекватним для визначення концентрації антитіл у зразках. Іноді результати можуть бути вищими, ніж верхня межа діапазону вимірювань (> 200 Од/мл) для окремих зразків. Ці зразки необхідно повторно протестувати при більш високих розбавленнях для правильного розрахунку концентрації антитіл. У випадку із ЦСР зразками нижчі об'єми нерозбавленого ЦСР можна піпетувати в лунку 2, або попереднє розведення може бути зроблено з готовим до використання Міючим Буфером.

Можливі попередні розведення та піпетовані обсяги, а також результуючі коефіцієнти розведення, представлені нижче в таблиці розведення:

Зразок	попереднє розведення	зразок + розчинник	лунка 1:мкл	лунка 2:мкл	фактор розведення
Сироватка	1:4	20мкл + 60мкл	10 мкл	-	381
Сироватка	1:8	10 мкл + 70мкл	10 мкл	-	762
Сироватка	1:16	10 мкл + 150 мкл	10 мкл	-	1524
Сироватка	1:32	10 мкл + 310 мкл	10 мкл	-	3028
Сироватка	1:64	10 мкл + 630 мкл	10 мкл	-	6096
Сироватка	1:128	10 мкл + 1270 мкл	10 мкл	-	12192
Зразок	Попереднє розведення	Зразок + розчинник	Лунка 1:мкл	Лунка 2: мкл	Фактор розведення
ЦСР	-	-	-	60 мкл	4
ЦСР	-	-	-	30 мкл	7
ЦСР	-	-	-	15 мкл	13
ЦСР	1:2	50 мкл + 50 мкл	-	60 мкл	8
ЦСР	1:4	20 мкл + 60 мкл	-	60 мкл	16
ЦСР	1:8	10 мкл + 70 мкл	-	60 мкл	32
ЦСР	1:16	10 мкл + 150 мкл	-	60 мкл	64
ЦСР	1:32	10 мкл + 310 мкл	-	60 мкл	128

Розрахунок індексу антитіла:

Розрахунок індексу антитіл (IA) надасть інформацію про специфічне виробництво інтрацельних антитіл Вірусу Краснухи (тобто антитіла, вироблені в CSF). Індекс антитіл коливається від 0,6 до 1,3 нормально (див. Інтерпретація результатів). Для розрахунку IA спочатку необхідні концентрації антитіла до вірусу краснухи, специфічного IgG у сироватці та цереброспінальній рідині (ЦСР), скориговані факторами розведення. З цим визначається специфічне співвідношення IgG ($Q_{IgG\ spec}$):

$$Q_{IgG\ spec} = [IgG_{CSF\ spec}] / [IgG_{serum\ spec}]$$

$$= (Од/мл_{CSF} * фактор розведення) / (Од/мл_{serum} * фактор розведення) для факторів розведення дивитись таблицю$$

$$\text{Визначення IA: } IA = Q_{IgG\ spec} / Q_{IgG} \quad (1)$$

($Q_{IgG} = [IgG_{CSF}] / [IgG_{serum}]$) = співвідношення загального IgG. Необхідно виміряти окремо іншими засобами!

Клінічна поправка:

Співвідношення IA (1) враховує зміни в гематоенцефалічній функції, але не корегує великий локальний синтез поліспецифічного IgG в ЦНС, що збільшує Q_{IgG} і призводить до неправильних низьких значень IA.

Для більш безпечної клінічної діагностики різних неврологічних захворювань, тому важливо диференціювати між:

A) інфекції з моноспецифічною інтрацельною імунною реакцією, що вказує на каузальний антиген і

B) захворювання, де антитіла були синтезовані як вторинна поліспецифічна імунна реакція неспецифічною стимуляцією В-клітинних ліній.

Щоб уникнути таких помилково-негативних результатів при розрахунку стандартного IA (1), H.Reiber запропонував використовувати порогову функцію (отриману з емпіричних клінічних даних) для коригування розрахунку IA (з додатковим запитом вимірювання Альбуміну: $Q_{Alb} = [Alb_{CSF}] / [Alb_{serum}]$):

$$Q_{lim}(IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{Alb})^2} + 6x 10^{-6} - 1.7x 10^{-3}$$

Залежно від цього порога розрахунок IA розрізняє два випадки:

IA = $Q_{IgG\ spec} / Q_{IgG}$ якщо ($Q_{IgG} < Q_{lim}(IgG)$) (моноспецифічна імунна реакція) (2)

IA = $Q_{IgG\ spec} / Q_{lim}(IgG)$ якщо ($Q_{IgG} > Q_{lim}(IgG)$) (поліспецифічна імунна реакція) (3)

Рівняння 2 використовується, якщо Q_{IgG} являє собою умови бар'єру, що стосуються переважно крові, отриманої з CSF білкової фракції без істотного локального поліспецифічного синтезу IgG у ЦНС, тобто якщо $Q_{IgG} < Q_{lim}(IgG)$.

Рівняння 3 використовується, якщо $Q_{IgG} > Q_{lim}(IgG)$.

Для полегшення цих обчислень можна використовувати комп'ютерну таблицю. ORGENTEC Diagnostika підготувала таку таблицю в рамках Excel та надає її на прохання зацікавленим клієнтам, які використовують аналізи Alegria® Ліквор.

Інтерпретація результатів

0.6 ≤ IA < 1.3 Нормальний діапазон
 1.3 ≤ IA < 1.5 Невизначений
 IA ≥ 1.5 Інтрацельний синтез специфічного антитіла до Вірусу Краснухи

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Цей аналіз є діагностичною допомогою. Визначений клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах єдиного тесту, але повинен проводитися лікарем після того, як всі клінічні та лабораторні дані були оцінені щодо всієї клінічної картини пацієнта. Крім того, кожне рішення про терапію приймається індивідуально.

Для зразків сироватки або CSF, що показують значення нижче нижньої межі діапазону вимірювань (задокументований результат випробувань <10 Од / мл), індекс антитіла не може бути розрахованим. Залежно від сукупності результатів (наприклад, підвищених значень антитіла в CSF) можна розглянути повторення з меншим розбавленням зразка сироватки. Значення IA <0,6 можуть вказувати на методичні помилки. Всі часткові результати повинні бути перевірені на дійсність.

Вищезазначені діапазони відповідають роботі X. Рейбер і повинні розглядатися лише як керівні принципи. Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановила власні норми та патологічні діапазони для антитіл у зразках пацієнтів.

Нормальний результат IA не виключає інфекції. Коли зразок приймається на ранніх стадіях захворювання, індекс антитіл все ще може перебувати в нормі. Підвищений IA не виключає наявності іншого інфекційного збудника як причини захворювання. Підвищені значення IA можуть зберігатися протягом багатьох років після інфікування.

Результати досліджень

		Порівняльний метод		
		AI > 1.5	AI < 1.5	
ORG 919GL	AI > 1.5	20	1	
	AI < 1.5	0	34	
		20	35	55
Чутливість:	100.0 %			
Специфічність:	97.1 %			
Загальне узгодження:	98.2 %			



ВИРОБНИК

ОРДЖЕНТЕК Діагностика ГмбХ
Карл-Цайс-Штрассе 49-51
55129 Майнц-Німеччина
Телефон: +49(0) 61 31/92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31/92 58-58
Інтернет: www.orgentec.com



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

