

**НАБОР ИФА**  
**ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG**  
**К РАННЕМУ АНТИГЕНУ**  
**ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР**

**1415-11, EBV-EA IgG**

Каталог. № : 1415-11  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 05-07-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Анализ	EBV-EA IgG ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль и пороговое значение (cut-off)
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	100 %
Чувствительность	100 %
Общее время	~ 90 мин.
Срок годности	12-18 мес.

#### НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для определения антител класса IgG к раннему антигену вируса Эпштейна-Барр (EBV-EA) в сыворотке и плазме человека.

#### ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение Эпштейна-Барр вируса было впервые описано в 1964 году Эпштейном, Аконгом и Барр при использовании микроскопического изучения культуры лимфобласта, полученной для пациентов с лимфомой Буркитта. EBV классифицируется к герпесным вирусам, основываясь на его морфологической характеристике.

EBV инфекция демонстрирует широкий спектр клинических симптомов. EBV инфекция передается через слюну, возникает в детстве и протекает бессимптомно. В США 50% населения демонстрирует антитела EBV до 5 лет; 80% при совершеннолетию. Также отмечены инфекции EBV ассоциированные с переливанием. В молодости, инфекция EBV может быть клинически выражена как инфекция мононуклеоза с типичными симптомами заболевания горла, лихорадкой и лимфоденопатией. Студенты колледжа и военные часто упоминаются как высокозаражаемая часть населения на мононуклеоз.

После первичной инфекции EBV, предполагается, что В лимфоциты могут содержать EBV геном и представлять скрытую инфекцию, что продолжается всю жизнь. Реактивация EBV инфекции или усиленная активность инфекции замечена в иммуносупрессивных пациентов или при иммунодефиците, при пересадке органов, опухоли, беременных женщин и особ преклонного возраста. EBV также ассоциируется при патогенезе двух опухолей: лимфомой Буркитта и раком носоглотки. Описание исследований DNA гибридизации указывают на присутствие EBV генома в образцах биопсии, взятых у пациентов с этими видами опухоли.

Лимфома Буркитта первично обнаружена в Африке, особенно у детей и в Новой Гвинее. Часто ставится диагноз инфекции малярии при лимфоме Буркитта и предположено является со-фактором. Рак носоглотки наблюдается в Азии, особенно в Южном Китае, и связано с генетическим или влиянием окружающей среды в качестве со-фактора.

За последние два десятилетия серологические методы улучшились от тестирования на присутствие неспецифических гетерофильных антител до измерения уровня IgG и IgG, что формируются против субъединиц EBV антиген комплексов. Одним из наилучших индикаторов активности EBV инфекции является антитело к вирусному капсульному антигену, структурный протеин необходимый для репродукции вируса. Вирусный капсульный антиген присутствует в каждой инфицированной EBV клетке. IgG,

что относится к EA является одним из наиболее раннего определяемого иммунного ответа, что обычно присутствует при начале заболевания, и достигающего своего пика на 4-6 недель. Уровни IgG являются также временными, быстро уменьшающиеся до неопределяемого уровня в течении 2-3 месяцев после начала клинических симптомов.

#### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген EBV-EA привитый к поверхности микролунок. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки. Специфическое IgG антитело, если присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он связывается с антитело-антиген комплексом. Излишки конъюгата вымываются и добавляется субстрат. Каталитическая реакция ферментного конъюгата останавливается в определенное время. Интенсивность цвета пропорциональна количеству специфического IgG антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

#### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Стрипы микропланшета: лунки с привитым антигеном EBV-EA – 12x8 лунок.
2. Разбавитель образца: синий раствор, 1 фл/22 мл.
3. Калибратор: значение коэфф. (f) указано на этикетке, красный колпачок – 1 фл/ 150 мкл.
4. Отрицательный контроль: диапазон указан на этикетке, прозрачный колпачок – 1 фл/150 мкл.
5. Положительный контроль: диапазон указан на этикетке, зеленый колпачок – 1 фл/150 мкл.
6. Промывочный концентрат: 10x концентрат – 1 бут. /100 мл.
7. Ферментный конъюгат: раствор красного цвета – 1 фл/12 мл.
8. Хромогенный раствор ТМБ: янтарная бутылка – 1 фл/12 мл.
9. Стоп-раствор – 2 N HCl 1фл/12 мл.

#### ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8°C.
2. Храните микролуники запечатанными в сухом пакете с осушителем. Мы рекомендуем использовать все лунки в течении 4 недель после первого вскрытия.
3. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности.
4. Храните реагенты от тепла, солнца и сильного света.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Обращайтесь с реагентами как с потенциально инфекционными.
2. Не пипетируйте ртом. Не ешьте, не пейте и не курите в местах использования реагентов.
3. Компоненты набора предназначены для использования как единое целое. Не смешивайте компоненты разных лотов.
4. Этот продукт содержит компоненты с азидом натрия. Азид натрия может реагировать с свинцом и медью и формировать взрывоопасное вещество. При попадании промойте большим количеством воды.

#### СБОР И ХРАНИЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы хранятся при 2-8°C до семи дней и замороженными до шести месяцев. Избегайте повторных циклов замораживания/размораживания образца сыворотки.

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ К АНАЛИЗУ

1. Приготовьте 1x промывочный буфер. Приготовьте промывочный буфер добавлением дистиллированной или деионизированной воды в 10x промывочный концентрат до конечного объема 1 л.
2. Приведите все образцы и реагенты к комнатной температуре (20-25°C) и осторожно смешайте.

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите необходимое количество стрипов в держатель.
2. Приготовьте 1:20 разбавление добавлением 10 мкл образцов, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора к 200 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно перемешайте.
3. Внесите 100 мкл разбавленных сывороток, калибратора и контролей в соответствующие лунки. Для реагента бланка, внесите 100 мкл абсорбирующего раствора в лунку A1. Встряхните держатель для удаления пузырей и перемешайте. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
4. Удалите жидкость с лунок. Повторите промывание промывочным буфером три раза.
5. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.

- Удалите ферментный конъюгат из всех лунок. Повторите промывание промывочным буфером три раза.
- Внесите 100 мкл ТМБ субстрата и инкубируйте 15 мин. при комнатной температуре.
- Добавьте 100 мкл стоп-раствора для остановки реакции. Перед считыванием убедитесь, что в лунках нет воздушных пузырей.
- Считайте ОП микролуночным ридером при 450 нм.

#### ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Для получения порогового значения ОП: Умножить ОП калибратора на коэфф., напечатанный на этикетке калибратора.
- Вычислите коэффициент EBV-EA IgG каждого определения делением значения ОП каждого образца на полученную ОП порогового значения.

#### Пример:

Если значение коэфф. (f) на этикетке = 0,4  
 Полученная ОП калибратора = 1,100  
 ОП порогового значения = 1,100 x 0,4 = 0,44 (по определению коэфф. EBV-EA IgG = 1)

ОП образца пациента = 0,580  
 Коэфф. EBV-EA IgG = 0,580/0,44 = 1,32 (положительный результат)

ОП образца пациента = 0,320  
 Коэфф. EBV-EA IgG = 0,320/0,44 = 0,73 (отрицательный результат)

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Анализ будет действительный при выполнении следующих условиях:

- Значение ОП реагента бланка вхолостую должно быть меньше, чем 0,150.
- Если значение ОП калибратора ниже чем 0,250, анализ недействительный и его необходимо повторить.
- Коэффициент EBV-EA IgM для отрицательного и положительного контроля должен быть в диапазоне, указанном на этикетке.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

**Отрицательный:** Коэффициент EBV-EA равен 0,90 или меньше является серонегативным к IgG антителам.

**Сомнительный:** Коэффициент EBV-EA равен 0,91-0,99 является сомнительным. Образцы следует тестировать повторно.

**Положительный:** Коэффициент EBV-EA равен 1,00 или выше.

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Гистограмма:

215 случайных образцов были определены данным анализом. Результаты теста были вычислены как коэффициент IgG при использовании выбранной референтной сыворотки как коэфф. IgG 1. Распределение частоты против значения коэфф. IgG представлены на рис. в оригинале инструкции.

##### Соотношение П/О

63,2% (136 образцов) имеют коэфф. IgG ниже 1.  
 Среднее значение = 0,509 CO=0,229  
 Коэфф. 1 IgG (пороговое значение) = среднее значение + 2 CO

36,7% (79 образцов) имеют значение коэфф. IgG выше 1.  
 Среднее значение = 2,352 CO=1,324  
 Соотношение П/О = Среднее положительного / среднее отрицательного = 2,352/0,509=4,6

##### Ожидаемые значения и распространенность

215 образцов случайных доноров крови, которые не имели симптомов, исследовались данным анализом. 79 были обнаружены как положительные (36,7%) и 136 были обнаружены как отрицательные (63,2%). Распространенность зависит от разных факторов, как географическое расположение, возраст, социально-экономический статус, раса, тип используемого анализа, сбор образцов и проведения процедуры, клинической и эпидемиологической истории.

##### Точность:

Точность была определена оценкой трех разных сывороток восьми репликантов за период одной недели.

	Отрицательный	Низко положит.	Положительный
Внутри тестовый	12,5%	8,5%	5,6%
Между тестовый	14,8%	10,9%	8,5%

#### ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

- Величины, полученные в этом анализе, предназначены только для диагностических целей. Результаты пациентов должны интерпретироваться в соответствии с клинической историей и данными других исследований.
- Результаты детей должны интерпретироваться с осторожностью. Этот набор предназначен для измерения IgG антитела в образце пациента. Положительные результаты в новорожденных должны интерпретироваться с осторожностью, поскольку материнский IgG может пассивно передаваться к плоду до рождения.
- Результаты, полученные для иммунокомпромиссных индивидов должны интерпретироваться с осторожностью.
- Существует возможность перекрестной реактивности анализа для образцов, содержащих анти-E.coli антитело.



#### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»  
 ул.Черновола, 97  
 г. Ивано-Франковск, 76005  
 тел.: +38 (0342) 775 122  
 факс: +38 (0342) 775 123  
 e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)