



## ТЕСТ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ IgG АНТИТЕЛ К ПАРОТИТУ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ТВЕРДОФАЗНОГО АНАЛИЗА (ИФА)

Тест для количественного определения IgG антител к  
Инфекционному паротиту в сыворотке крови человека

Кат.№: 1410Z  
Производитель: Diagnostic Automatic, Inc., (США)

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

Методика от 01-30-2012

### ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	Mumps IgG ИФА
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Непрямой ИФА: антигенное покрытие пластин
Диапазон обнаружения	Качественный: Положительный, Слабоположительный, Отрицательный Контроль
Образец	10 мкл
Специфичность	100 %
Чувствительность	100 %
Общее время	~ 75 минут
Срок хранения	12-14 месяцев
Температура хранения	2-8 °С

\*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" Mumps IgM ELISA предназначен для качественного определения IgM антител к Инфекционному Паротиту. Предназначен для использования в оценке серологического состояния пациента к инфекции паротита. Он также используется для оценки спаренных сывороток на предмет значительного увеличения специфического IgG как указателя недавней или текущей инфекции паротита. Для использования в *in-Vitro* диагностике. Тест высокой сложности.

### ВВЕДЕНИЕ

Вирус паротита – участник группы парамиксовирусов и этиологический носитель паротита в человеке. Паротит - обобщенная болезнь, обычно сопровождаемая опуханием околоушной (слюнной) железы и умеренными признаками. Это также одна из наиболее распространенных причин асептического менингита, энцефалита, также воспаления яичек (орхита), поджелудочной железы и яичников. Воспаление околоушных желез как симптом при эпидемиологическом паротите обычно достаточно диагностируемое, что не мешает его серологическому подтверждению. Однако, третья часть инфекций паротита субклиническая или нераспознанная и может потребовать вирусной изоляции и/или некоторой другой серологической процедуры, чтобы подтвердить или исключить инфекцию паротита. Пример этого представляет орхит или менингоэнцефалит, два наиболее осложнения инфекции паротита, без затрагивания слюнной железы. Вирусная изоляция длительна и тяжела и обычно непрактична процедура для типичной клинической лаборатории. Текущие методы для серодиагностики инфекций паротита – тест на серологическую нейтрализацию *in-vitro*, подавление гемагглютинации (ПГГ), непрямая иммунофлуоресценция, и связывание комплемента (СК). Из этих методов нейтрализация считается наиболее специфической. Однако, тест на нейтрализацию требует 4-5 дней, чтобы закончить его. ПГГ и СК считаются менее чувствительными чем анализ на нейтрализацию.

В этих методах отсутствует специфичность, которая ограничивает их полноценность в определении иммунного статуса. ПГГ анализ также требует предварительной обработки анализируемых сывороток, чтобы удалить неспецифичные гемагглютинативные ингибиторы из некоторых сывороток.

Заражение вирусом паротита, будь то симптоматическое или субклиническое, в общем принято считать таким, которое ведет к пожизненному иммунитету. Вирус анти-паротита IgM проявляется 2-3 днями после обнаружения первых клинических симптомов (которые сохраняются 2-3 месяца), сопровождаемое вырабатыванием IgG антител паротита, которые сохраняются пожизненно. После вакцинации активным вирусом в 90% случаев наблюдается сероконверсия, однако, титр несколько ниже чем в обычных инфекциях.

Впервые описанные Энгвалом, Перлманом и Ван Вименом иммуноферментные анализы могут быть, и специфичными и чувствительны для обнаружения и измерения сывороточных белков. Чувствительность, специфичность, и воспроизводимость фермент-связанные иммунологические анализы могут быть сравнены с другими серологическими анализами на определение антител, такими как иммунофлуоресценции, связывания комплемента, гемагглютинации и нейтрализации.

Иммуноферментный анализ (ИФА) столь же чувствителен как реакция нейтрализации и более чувствительный чем СК и ПГГ, что делает его надежным анализом при определении иммунного состояния.

Набор Mumps IgG ELISA компании Diagnostic Automation предоставляет все необходимые реагенты для быстрого определения и количественного вычисления IgG антител к вирусу паротита в образцах сыворотки человека.

### Принцип анализа

Твердофазные иммуноферментные анализы (ИФА) полагаются на способность биологических материалов, (то есть, антигенов) чтобы адсорбироваться к пластмассовым поверхностям типа полистирола (твердая фаза). Когда антигены связываются в твердой фазе, они вступают в контакт с сывороткой пациента. Антиген специфичное антитело, если существует, связывается с антигеном в твердой фазе, образуя комплексы антиген-антитело. Избыток антител удаляется промывкой. После этого добавляется козлиный анти-человеческий IgG глобулин, конъюгированный с пероксидазой хрена обыкновенного, который тогда связывается с комплексами антитело-антиген. Избыток конъюгата удаляется промывкой с последующим добавлением хромогена/субстрата, тетраметилбензидина (ТМБ). Если специфическое к антигену антитело присутствует в сыворотке пациента, развивается синий цвет.

Когда ферментативная реакция останавливается 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, содержимое лунок становится желтым. Желтый цвет, который является пропорциональным к концентрации антител в сыворотке, может считываться на соответствующем спектрофотометре или микропланшетном считывателе для ИФА. Чувствительность, специфичность и воспроизводимость ИФА может быть сравнена с другими серологическими анализами на антитела, такими как иммунофлуоресценции, связывания комплемента, гемагглютинации и радиоиммуноанализом.

### ПРЕДСТАВЛЕНИЕ НАБОРА

#### Поставляемые материалы

Каждый набор содержит в достаточных количествах следующие компоненты для проведения числа анализов, указанного на этикетке упаковки.

- Микропланшет, покрытый очищенным антигеном (инактивированным) паротита:** 96 лунок, расположенных в двенадцати 1 x 8-луночных полосках, хранятся в пакете из фольги с осушителем (96Т: один планшет; 480Т: 5 планшетов).
- Разбавитель образца Тип 1:** Готовый к использованию. Содержит пролин (0,1%) в качестве консерванта. (96Т: одна бутылка, 30 мл, 480Т: 2 бутылки, 60 мл каждая).
- Калибратор:** человеческая сыворотка или дефибринированная плазма. Азид натрия (< 0.1 %) и pen/strep (0.01 %) добавлены как консерванты, с указанием специфичного коэффициента набора, напечатанного на этикетке флакона. Калибратор используется, чтобы калибровать анализ, ссылаясь на ежедневные перепады температуры и другие условия анализа. (96Т: один флакон 0,4 мл; 480Т: 1 флакон, 0,8 мл).\*
- Положительный контроль:** человеческая сыворотка или дефибринированная плазма. Азид натрия (< 0.1 %) и pen/strep (0.01 %) добавлены как консерванты, с указанием установленного диапазона, напечатанного на этикетке флакона. Положительный

контроль используется, чтобы контролировать положительный диапазон анализа. (96Т: один флакон 0,4 мл; 480Т: 1 флакон, 0,8 мл).\*

5. **Отрицательный контроль:** человеческая сыворотка или дефибринированная плазма. Азид натрия (< 0.1 %) и pen/strep (0.01 %) добавлены как консерванты, с указанием установленного диапазона, напечатанного на этикетке флакона. Отрицательный контроль используется, чтобы контролировать отрицательный диапазон анализа. (96Т: один флакон 0,4 мл; 480Т: 1 флакон, 0,8 мл).\*
6. **Конъюгат пероксидазы хрена:** Готовый к использованию. Козлиный анти-человеческий IgG. Содержащий проклин (0,1%) и гентамицин в качестве консервантов. (96Т: одна бутылка 16 мл; 480Т: 5 флаконов, 16 мл).
7. **Раствор хромогена/субстрата тип I:** тетраметилбензидин (ТМВ), готовый к использованию. Реагент должен оставаться закрытым, если не используется. При испарении образуется осадок в лунках с реагентом. (96Т: 1 бутылка, 15 мл; 480Т: 5 флаконов, 15 мл каждый).
8. **Промывочный буфер тип I (20X концентрат):** разбавить 1 часть концентрата + 19 частей деионизированной или дистиллированной воды. Содержит TBS, Твин-20 и проклин (0,1%) в качестве консерванта. (96Т: одна бутылка, 50 мл; 480Т: 1 бутылка, 250 мл).
9. **Стоп раствор:** Готовый к использованию, содержит раствор 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. (96Т: 1 бутылка, 15 мл; 480Т: 5 бутылок, 15 мл каждая).

\*Примечание: флаконы с сывороткой могут содержать избыточные объемы.

#### Дополнительные Требования

1. Промывочная бутылка, автоматизированная или полуавтоматическая система промывки микролуночного планшета.
2. Микропипетки, включая многоканальные, способные к точному распределению объемов 10-200 мкл (КВ меньше чем 3 %).
3. Мерная колба на 1 литр.
4. Бумажные полотенца.
5. Пробирка для разбавления сыворотки.
6. Резервуары реагентов для многоканальных пипеток.
7. Наконечники для пипеток.
8. Дистиллированная или деионизированная вода (dH<sub>2</sub>O), Тип 1 или эквивалент.
9. Таймер, способный измерять с точностью +/- 1 сек. (0 - 60 мин).
10. Канистры для отходов и гипохлорита натрия 0.5% (50 мл отбеливателя в 950 мл dH<sub>2</sub>O).
11. Микропланшетный считыватель с одиночной или двойной длиной волны с фильтром 450 нм. При использовании двойной длины волны настройте референтный фильтр на 600-650 нм. Ознакомьтесь с Руководством пользователя или свяжитесь с изготовителем аппарата, чтобы установить особенности линейности работы считывателя.

**Замечание:** Использовать только чистую, сухую стеклянную посуду.

#### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить невскрытый набор при 2-8°C. Набор для анализа может быть использован на протяжении срока годности набора. См. срок годности на этикетке упаковки.
2. Неоткрытые микропланшеты следует хранить при 2-8°C. Неиспользованные полоски должны быть немедленно герметично закрыты в мешочке с высушивающим средством и возвращены для соответствующего хранения при 2-8°C.
3. Хранить раствор конъюгата пероксидазы хрена при 2-8°C.
4. Калибратор, положительный и отрицательный контроли хранить при 2-8°C.
5. Разбавитель образца плюс тип 1 и 20x промывочный буфер тип I хранить при 2-8°C.
6. Раствор хромогена/субстрата тип I хранить при 2-8°C. Реагент должен оставаться закрытым, если не используется. При испарении образуется осадок в лунках с реагентом.
7. Промывочный буфер тип I (разбавленный 1x) хранить при 21-25°C до 5 дней, или до 1 недели при 2-8°C.

**Замечание:** При поддержке стабильной температуры хранения реагенты и субстраты будут оставаться стабильными в течении срока годности набора. См. срок годности на этикетке упаковки. При изготовлении данного изделия были приняты меры предосторожности, чтобы защитить реагенты от загрязнения и бактериостатических носителей. Необходимо соблюдать осторожность. Чтобы защитить

реагенты данного набора от загрязнения. Не используйте, если наблюдается микробиологическое загрязнение или осадок.

#### Предосторожности

1. Только для использования in-Vitro.
2. Компоненты человеческой сыворотки данного набора использованные в подготовке контролей и калибратора были проверены методом, одобренным FDA на наличие антител к человеческому вирусу иммунодефицита 1 и 2 (ВИЧ 1&2), гепатиту С (HCV) также к поверхностному антигену гепатита В, при этом был получен отрицательный результат. Поскольку никакой метод проверки не может обеспечить полной уверенности в отсутствии ВИЧ, вируса гепатита С, В или других возбудителей инфекций, с образцами и реагентами человеческого происхождения необходимо обращаться как со способными передавать возбудители инфекций.
3. Центры контроля болезни и их предотвращения, также Национальные институты здоровья рекомендуют обращаться с потенциальными возбудителями инфекций при соблюдении 2 уровня биоопасности.
4. Компоненты этого набора были проверены на контроль качества как контрольная единица партии набора. Не смешивать компоненты из различных номеров партий раствора хромогена/субстрата тип I, стоп раствора и промывочного буфера тип I. Не смешивать компонентами от других изготовителей.
5. Не использовать реагенты по истечении срока годности, отмеченного на этикетке упаковки.
6. Все реагенты должны быть при комнатной температуре (21 - 25°C) перед выполнением анализа. Извлечь только объем реагентов, который необходим. **Не переливать реагенты назад во флаконы, поскольку может произойти загрязнение реагента.**
7. Перед открытием флаконов с контролем и калибратором, резко ударить планшетом по твердой поверхности, чтобы убедиться, что вся жидкость находится на дне флакона.
8. Использовать только дистиллированную или деионизированную воду и чистую стеклянную посуду.
9. Не позволять высыхать лункам во время анализа; добавлять реагенты немедленно после завершения этапов промывки.
10. Избегать перекрестного загрязнения реагентов. Мыть руки до и после работы с реагентами. **Перекрестное загрязнение реагентов и/или образцов может вызвать ошибочные результаты.**
11. При выполнении этапов промывки вручную, лунки должны быть промыты 3 раза. Может потребоваться до 5 циклов промывки, если используется автоматизированное промывочное оборудование.
12. **Азид натрия подавляет активность конъюгата. Для добавления конъюгата необходимо использовать чистые наконечники для пипеток, чтобы избежать переноса азида натрия из других реагентов.**
13. Было установлено, что азид натрия может взаимодействовать со свинцом и медью в трубопроводах, образуя взрывчатые компоненты. При утилизации промыть канализацию водой, чтобы минимизировать нагромождение компоненты металлов азида.
14. Никогда не пипетировать ртом и не позволять реагентам или образцам пациентов вступать в контакт с кожей. Реагенты, содержащие Проклин, азид натрия, и ТМВ могут быть раздражающими. Избегать контакта с кожей и глазами. В случае контакта, промыть большим количеством воды.
15. При использовании раствора гипохлорита (отбеливающего вещества) как дезинфицирующего средства, не использовать его во время фактического проведения анализа из-за потенциального влияния на ферментативную активность.
16. Избегать контакта стоп раствора (1N серной кислотой) с кожей или глазами. При контакте немедленно промыть область водой.
17. **Предостережение:** Жидкие отходы при кислотном pH должны быть нейтрализованы до добавления гипохлорита натрия (отбеливающего вещества), чтобы избежать образования ядовитого газа. Рекомендуется утилизировать отработанные планшеты в биобезопасные пакеты. См. Предосторожность 3.
18. Концентрации анти-паротита в определенном образце, определяемые наборами анализов от разных производителей могут варьировать исходя из различий методах анализа и специфичности реагентов.

#### СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Следует обращаться с кровью и сывороткой как со способными передавать носители инфекций.

- Оптимальная эффективность набора зависит от использования свежих образцов сыворотки (чистых, не гемолизованных, не липемических, не иктерических). При необходимости проведения повторного анализа, минимально рекомендуемый объем – 50 мкл. Образцы должны быть собраны асептически венопункцией. Предварительное отделение от сгустка предотвращает гемолиз сыворотки.
- Хранить сыворотку при 2-8°C, если анализ будет проводиться в течении 2 дней. При более длительном хранении образцов, хранить их -20°C или ниже. Избегать использования не замороженного холодильника, поскольку он может привести к деградации антител из-за циклов замораживания-размораживания. Неправильно хранящиеся образцы или подавленные множественным циклам замораживания-размораживания могут выдать ошибочные результаты.
- Рекомендуется хранить образцы в соответствии с рекомендациями NCCLS (Утвержденными стандартными процедурами по обращению и обработке образцов крови, H18-A.1990).

## МЕТОДЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

### Подготовка к анализу

- Извлеките все реагенты из места хранения и перед использованием позвольте им нагреться до комнатной температуры (21-25°C). Немедленно возвратите все реагенты в холодильник после использования.
- Перед использованием все образцы и контроли необходимо встряхнуть и перемешать.
- Разбавить 50 мл промывочного буфера (20x) тип I до 1л дистиллированной и/или деионизированной водой. Хорошо перемешать.

### Процедура анализа

**Примечание:** Для оценки парной сыворотки оба образца должны тестироваться в дублях на одном планшете. Рекомендуется тестировать парные сыворотки в соседних лунках.

- Поместите желаемое количество полосок в рамку для микролунок. Проведите 4 определения контроля/калибратора (одного отрицательного контроля, двух калибраторов и одного положительного контроля) на процедуру. Бланк реагент (БР) должен применяться в каждом анализе. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильных конфигураций контролей/cut-off-калибраторов. Возвратите неиспользованные полоски в запечатывающийся мешочек с осушителем, герметично закройте и возвратите на хранение при 2-8°C.

### Пример:

Plate Location	Sample Description	Plate Location	Sample Description
1A	RB	2A	Patient #4
1B	NC	2B	Patient #5
1C	Cal	2C	Patient #6
1D	Cal	2D	Patient #7
1E	PC	2E	Patient #8 (Acute 1)
1F	Patient #1	2F	Patient #8 (Acute 2)
1G	Patient #2	2G	Patient #8 (Convalescent 1)
1H	Patient #3	2H	Patient #8 (Convalescent 2)

RB = Бланк реагент - Лунка без добавления сыворотки при анализе со всеми реагентами. Используется для обнуления считывателя.

NC = Отрицательный контроль

Cal = Калибратор

PC = Положительный контроль

- Разведите анализируемые сыворотки, калибратор и контрольные сыворотки 1:21 (например: 10 мкл + 200 мкл). При ручном разбавлении рекомендуется внести сначала разбавитель образца в порцию для анализа и затем добавить сыворотку пациента. Хорошо перемешать (рекомендуется вихревой миксер).
- В отдельные лунки добавьте 100 мкл разбавленных сывороток пациентов, Калибратора и контрольных сывороток. Добавьте 100 мкл разбавителя сыворотки в лунку бланк реагента. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильных конфигураций лунки бланка реагента.
- Инкубируйте каждую лунку при комнатной температуре (21-25°C) в течение 25 +/- 5 минут.
- Аспирировать или вытряхнуть жидкость из всех лунок. При использовании полуавтоматизированной или

автоматизированной промывочной установки, внесите 250-300 мкл разбавленного промывочного буфера в каждую лунку. Извлеките микротитровальный планшет из промывателя, переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора. Повторите процедуру промывки 2 раза (в общем количестве 3 промывки) для полуавтоматизированного оборудования или 4 раза (в общем количестве 5 промывок) для автоматизированного оборудования. После конечной промывки вытряхните планшет на бумажное полотенце. Чтобы удалить всю жидкость из лунок.

**\*\* ВАЖНОЕ ЗАМЕЧАНИЕ:** Относительно этапов 5 и 8 - недостаточная или чрезмерная промывка приводит к вариациям анализа и воздействует на достоверность результатов. Поэтому, для лучших результатов рекомендуется использование полуавтоматического или автоматизированного набора оборудования для распределения объема, чтобы полностью заполнить лунку (250-300 мкл). В общем количестве может потребоваться 5 промывок при использовании автоматизированного оборудования.

**Полное удаление промывочного буфера после конечной промывки крайне важно для точности выполнения анализа. Также, визуально убедитесь, что в лунках отсутствуют пузырьки.**

- Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую лунку, включая лунку бланк реагента. Избегать образования пузырьков после добавления, так как они могут вызвать ошибочные результаты.
- Инкубируйте каждую лунку при комнатной температуре (21-25°C) в течение 25 +/- 5 минут.
- Повторите промывку как описано в этапе 5\*\*.
- Добавьте 100 мкл раствора хромогена/субстрата (ТМВ) в каждую лунку, включая лунку бланк реагента, придерживаясь равномерного темпа при добавлении в планшет.
- Инкубируйте планшет при комнатной температуре (21-25°C) в течение 10-15 минут.
- Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку, включая лунку бланка, в том же темпе и порядке как добавлялся ТМВ. Постучите по планшету вдоль краев, чтобы перемешать содержимое лунок. Планшет может оставаться в течение 1 часа после добавления стоп раствора перед считыванием.
- Образовавшийся окрас необходимо считать на ИФА считывателе при 450. При использовании двойной волны считывания настройте референтный фильтр длины волны на 600-650 нм. Инструмент необходимо настраивать в рабочем режиме. Бланк реагент должен быть менее чем 0,150 абсорбции при 450 нм. Если бланк реагент составляет  $\geq 0.150$ , процедуру необходимо повторить. Настройте считыватель на лунке бланк реагента и затем продолжайте считывание всего планшета. Уничтожьте использованные планшеты после получения результатов считывания.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для того, чтобы анализ считался действительным, необходимо учесть следующие условия:

- Калибратор и контроли должны использоваться в каждой процедуре анализа.
- Бланк реагент (при считывании против пустого бланка) должен составлять  $< 0.150$  абсорбции (A) при 450 нм.
- Отрицательный контроль должно быть  $\leq 0.250$  A при 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Каждый Калибратор должен быть  $\geq 0.250$  A при 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Положительный контроль должен быть  $> 0.500$  A 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Значения **ISR** (Коэффициента иммунного состояния) для положительного и отрицательного контролей должны быть в их соответствующих диапазонов, напечатанных на флаконах. Если значения контроля вне пределов их соответствующих диапазонов, анализ должен рассматриваться как недействительный и должен быть повторен.
- Дополнительные контроли могут анализироваться в соответствии с указаниями или требованиями местных, государственных и/или федеральных законов или аккредитованных учреждений.
- За рекомендациями соответствующей практики контроля качества смотрите документ C24A NCCLS.
- Если все указанные выше критерии не достигнуты после повторного анализа, обратитесь к техническим службам компании-производителя.

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ****Вычисления**

- ОП (оптическая плотность) среднего калибратора – вычислите среднее значение ОП для калибратора от двух определений калибратора.
- Поправочный коэффициент – для отчета ежедневных отклонений в работе анализа, относящихся к комнатной температуре и времени. Поправочный коэффициент определяется компанией-производителем для каждой партии наборов. Поправочный коэффициент печатается на флаконе калибратора.
- Значение калибратора исключения - Значение калибратора исключения для каждого анализа определяется умножением поправочного коэффициента на среднюю ОП калибратора, определяемое в этапе 1.
- Значение ISR – Вычислите коэффициент иммунного состояния (ISR) для каждого образца разделив значение ОП образца на значение калибратора исключения, определяемый в этапе 3.

**Пример:**

Полученная ОП калибратора = **0.38, 0.42**  
 Средняя ОП калибратора = **0.40**  
 Поправочный коэффициент = **0.50**  
 Значение калибратора исключения = **0.50 x 0.40 = 0.20**  
 ОП, полученная от сывороток пациентов = **0.60**  
 Значение ISR = **0.60/0.20 = 3.00**

**Анализ**

- Значения ISR (коэффициента иммунного состояния) пациентов.

ISR	Результаты	Интерпретация
≤ 0.90	Отрицательный	Нет обнаруживаемых антител IgG к свинке с помощью теста ELISA. Такие лица предварительно не были инфицированы эпидемическим паротитом и восприимчивы к первичной инфекции.
0.91 – 1.09	Сомнительный	Образцы должны быть тестированы повторно. См. пункт 2 ниже.
≥ 1.10	Положительный	Указывает на присутствие обнаруживаемых антител IgG к свинке, что свидетельствует о текущем или перенесенном инфицировании. Индивидуум может быть подвержен риску передачи инфекции свинки, но не обязательно в настоящее время заразен.

- Образцы, остающиеся сомнительными после повторного анализа, необходимо проанализировать снова альтернативным методом, например, иммунофлуоресцентного анализа (IFA). Если результаты остаются сомнительными после дальнейшего тестирования, дополнительные образцы должны быть взяты (см. Ограничения № 3 и 4).
- При оценке парных сывороток, если образец, взятый при остром заболевании, - отрицательный и образец, взятый на стадии выздоровления, - положительный, сероконверсия имела место. Это указывает на значительное изменение уровня антител и пациент первично инфицирован.
- Для оценки сыворотки на значительное изменение уровня антител или сероконверсию, образцы должны быть протестированы в двух экземплярах в одном анализе. Среднее ISR обоих образцов (острая и выздоравливающая формы) должно быть больше, чем 1,00 для оценки сыворотки на значительное повышение уровня антител.
- Дополнительный контроль качества парных сывороток: (См. примечание к процедуре исследования). В качестве проверки для приемлемой воспроизводимости как сыворотки острой формы (проверено в двух экземплярах), так и сыворотки выздоравливающей формы (проверено в двух экземплярах), следующие критерии должны быть соблюдены для достоверных результатов:

Острая форма1 ISR = 0.8–1.2      Выздоровливающая форма1 ISR = 0.8-1.7  
 Острая форма2 ISR                      Выздоровливающая форма2 ISR

- Сравнить ISR пар путем вычисления следующим образом:

$$\frac{\text{Среднее ISR (второй образец)} - \text{Среднее ISR (первый образец)}}{\text{Среднее ISR (первый образец)}} \times 100 = \% \text{ Рост Уровня ISR}$$

% Роста в ISR	Интерпретация
< 30.0 %	Никаких существенных изменений в уровне антител. Нет данных о недавно перенесенной инфекции. Если активная болезнь по-прежнему подозревается, третья проба должна быть взята и испытана в том же анализе, что и первый образец, для анализа значительного роста уровня антител.
≥ 30.0 %	Статистически значимые изменения уровня антител обнаружены. Это определяет тех лиц, которые, как предполагают, испытали недавнее или текущее инфицирование эпидемическим паротитом (реактивация, реинфекция или первичная инфекция, при которой острый образец был получен слишком поздно, чтобы продемонстрировать сероконверсию).

**Примечание:** При оценке парной сыворотки необходимо определить, находятся ли образцы со значениями высокой абсорбции в пределах характеристик линейности спектрофотометра. Внимательно прочтите инструкцию по эксплуатации или обратитесь к изготовителю прибора для получения установленных характеристик линейности вашего спектрофотометра.

**Ожидаемые Значения**

Свинка в первую очередь является инфекцией детей с 90% заражений, которые приходится на детей в возрасте до 15 лет. Она является наиболее распространенной в конце зимы и ранней весной. Поскольку многие случаи являются субклиническими или неопределенными, у многих ранее инфицированных взрослых не проявляется свинка, но подавляющее большинство из них при анализах имеют антитела к эпидемическому паротиту (1). В связи с очень заразным характером эпидемического паротита, 80 - 90% восприимчивых членов семьи приобретет инфекцию.

**ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА**

- Пользователю этого набора рекомендуется тщательно прочитать и понять инструкцию. Строгое следование протоколу необходимо для получения достоверных результатов анализа. В частности, корректное пипетирование образца и реагента, а также тщательная промывка и время инкубации являются критическими для получения надежных результатов.
- Этот набор предназначен для измерения IgG антител в образцах пациента. Положительные результаты у новорожденных следует интерпретировать с осторожностью, поскольку материнские IgG пассивно передаются от матери к плоду до рождения. Окончательный диагноз требует выделения вируса.
- Пробы, взятые в самом начале хода развития инфекции, возможно, не будут иметь обнаруживаемых уровней IgG. В таких случаях рекомендуется проводить анализ IgM, или получить второй образец сыворотки через 14-21 дней, чтобы протестировать его параллельно с исходной пробой для определения сероконверсии, которая свидетельствует о первичной инфекции.
- Образцы, которые остаются сомнительными после повтора анализа, должны быть повторно проанализированы дополнительным методом, например, иммунофлуоресценции (IFA). Если результаты остаются сомнительными после дальнейшего анализа, необходимо взять дополнительный образец.
- Результаты одного определения антител образца не должны использоваться при диагностике острой инфекции. Образцы парных сывороток (острая и выздоравливающая формы) должны быть собраны и протестированы одновременно для определения сероконверсии или значительного повышения уровня антител.
- Гетеротипические антитела существуют между свинкой и вирусом парагриппа. Таким образом, для подтверждения клинического диагноза атипичной инфекции свинки, рекомендуется одновременное тестирование на парагрипп, чтобы исключить потенциальную перекрестную реактивность.
- Реакция антител на вакцинацию ниже, чем на природную инфекцию свинки (1).
- Значения, полученные в этом анализе, предназначены только как помощь в диагностике заболевания. Каждый врач должен



интерпретировать результаты в свете истории болезни пациента, физических выводов и других диагностических процедур.

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Чувствительность и специфичность

В общей сложности 190 случайных выборок от трех различных популяций анализировали с помощью набора DAI Mumps IgG ELISA и со вторым коммерчески доступным набором ELISA. Исследуемая популяция состояла из сывороток, собранных в крупной городской больнице на юго-западе США, северо-восточном Департаменте здравоохранения США и случайно собранных сывороток от нормальных, бессимптомных амбулаторных доноров из северной части штата Нью-Йорк. Коммерчески доступный тест Mumps IgG ИФА был использован для выяснения результатов, которые были противоречивыми. Результаты этого исследования представлены следующим образом:

		DAI ELISA			
		+	-	Relative Sensitivity	Relative Specificity
IFA	+	152	1	99.3	96.6
ELISA	-	1	28	(152/153)	(28/29)

Полное согласование наблюдалось в ста пятидесяти семи (157) образцах, из которых сто двадцать девять (129) были положительными и двадцать восемь (28) были отрицательными. Тридцать три (33) образца дали противоречивые результаты и были протестированы с использованием контрольного теста Mumps IgG ИФА. Из тридцати трех (33) противоречивых результатов, двадцать четыре (24) оказались положительными с DAI Mumps IgG ELISA и отрицательными с другим тест-набором ELISA. Контрольный тест (IFA) определил из этих противоречивых результатов двадцать три (23) положительных и один (1) отрицательный. Сомнительные результаты (8), полученные DAI ELISA, считались неопределенными, и были исключены из расчета относительной чувствительности и специфичности.

##### Точность

Исследование было проведено с целью определения типичной точности анализа с DAI Mumps IgG ELISA. Среднее, SD и CV% были рассчитаны для обоих анализов, как для точности в пределах анализа, так и между анализами, а также точности между партиями.

##### Точность в пределах анализа

В Таблице 1 представлены результаты 5 образцов, которые раскапывались отдельно в группы по 20 в одном анализе.

**Таблица 1**  
Точность в пределах анализа

	n	Mean ISR	Std Dev	%CV
Serum 1	20	2.30	0.010	4.8%
Serum 2	20	2.14	0.010	5.6%
Serum 3	20	2.42	0.010	4.1%
Serum 4	20	.20	0.077	38.1%
Serum 5	20	.24	0.054	22.7%

##### Точность между анализами

В Таблице 2 представлен итог точности между анализами. Данные получены путем анализа 5 образцов, которые раскапывались отдельно в группы по 5 в 3 разных анализах.

**Таблица 2**  
Точность между анализами

	Day 1	Day 2	Day 3	n	Mean ISR	Std Dev	%CV
Serum 1	2.33	2.63	2.23	3	2.40	0.200	8.3%
Serum 2	2.21	2.56	2.16	3	2.31	0.220	9.5%
Serum 3	2.32	2.79	2.66	3	0.60	0.260	9.9%
Serum 4	0.32	0.34	0.27	3	0.31	0.034	10.8%
Serum 5	0.30	0.39	0.29	3	0.33	0.058	17.7%

##### Точность между партиями

Таблица III представляет краткую информацию о данных точности от партии к партии, которые определялись повторным испытанием пяти (5) образцов, индивидуально пипетированных в группах по пять (5) с помощью трех (3) различных партий реагентов.

**Таблица 3**  
Точность между партиями

	Lot 1	Lot 2	Lot 3	n	Mean ISR	Std Dev	%CV
Serum 1	2.24	2.58	2.40	3	2.41	0.260	10.8%
Serum 2	2.30	2.49	2.41	3	2.40	0.230	9.6%
Serum 3	5.58	2.96	5.58	3	2.71	0.280	10.3%
Serum 4	0.30	0.39	0.33	3	0.35	0.050	14.3%
Serum 5	0.33	0.37	0.36	3	0.36	0.030	8.3%

##### Внутри тестовая точность для Процентного роста Значения ISR

Внутрисерийная точность для парных сывороток была определена путем проверки дубликатов трех сывороток (с номерами 1 - 3), пять раз и с использованием этих значений для имитации определений парных сывороток для оценки значительного роста ISR. Результаты этого исследования представлены ниже в Таблице 4:

**Таблица 4**

Serum Printing	n	Mean Rise in ISR	SD	%CV	Min.	Max.
1:2	25	29.8%	6.4	21.6%	17.2%	41.5%
1:3	25	185.2%	24.2	13.1%	143.7%	233.0%
2:3	25	119.8%	17.2	14.4%	94.2%	152.0%

##### Процентный рост ISR

Исследование проводилось с использованием фактических задокументированных значений клинических острой и выздоравливающей форм сывороток. Все сыворотки были протестированы DAI ИФА и CF. Результаты представлены ниже в таблице 5.

**Таблица 5**  
Процентный рост ISR  
(Оценка Парных сывороток)

Sample	ISR	% Rise in ISR	CF Titer	Rise in Titer
1A	1.3		<8	
1C	3.3	154 %	64	> 4 FOLD
2A	2.2		8	
2C	3.6	64 %	64	3 FOLD
3A	2.1		8	
3C	12.0	471 %	> 128	> 4 FOLD
4A	1.9		16	
4C	2.6	37 %	64	2 FOLD
5A	2.1		< 8	
5C	6.0	186 %	64	> 4 FOLD
6A	9.1		16	
6C	12.0	32 %	> 128	>3 FOLD
7A	2.3		8	
7C	4.6	100 %	32	2 FOLD

\* (A = acute, C = convalescent)  
Negative = < 8  
Positive = ≥ 8

##### Перекрестная реактивность

Исследование было проведено для определения перекрестной реактивности DAI Mumps IgG ELISA с тремя образцами, которые дали отрицательный результат на IFA эпидемического паротита IgG, и положительный для IgG респираторно-синциального Вируса (РСВ) и Антиядерных антител (АНА). Дополнительное исследование было проведено для определения перекрестной реактивности DAI Mumps IgG ELISA с тремя образцами, которые дали положительный результат на IFA для вируса парагриппа типа 3 (PIV 3) IgG и отрицательными IFA эпидемического паротита IgG. Отрицательные DAI паротита IgG ИФА результаты для всех шести образцов показывают отсутствие перекрестной реактивности DAI паротита IgG ELISA с RSV, ANA и PIV-3.

##### ЛИТЕРАТУРА (См. в оригинале инструкции).

#### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

ООО «ДИАМЕБ»  
ООО «БиоТехЛаб-С»  
ул. Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 612  
e-mail: [www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)  
[www.biotechlab-s.com.ua](http://www.biotechlab-s.com.ua)