

## НАБІР ІФА

# ДЛЯ ЯКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ КЛАСУ IgA ПРОТИ ВІРУСУ VARICELLA ZOSTER У СИРОВАТЦІ АБО ПЛАЗМІ (ЦИТРАТНІЙ)

### 30114080, Varicella zoster virus IgA ELISA

Каталог. № : 30114080  
Кількість : 96  
Виробник : IBL (Німеччина)

Методика від 09-2011



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

#### 1. ВВЕДЕННЯ

Вірус вітряної віспи (вірус герпесу людини 3, HHV-3) належить до а-підроддини герпесвірусів. Частинки вірусу мають розмір приблизно 145 нм у діаметрі. Вони складаються з дволанцюжкової ДНК, оточені капсидом ікосаедрального білка та конвертом, який містить як клітини-хазяїни, так і вірусні компоненти. Вірус, як правило, передається респіраторною секрецією, а єдиний серотип викликає вітряну віспу (Вітрянку), дуже інфекційну дитячу хворобу та лишай (оперізуєчий лишай), нейродермічну хворобу; обидві хвороби зустрічаються по всьому світу. Вітряна віспа - це гостре захворювання, яке слідує за первинним контактом з вірусом, тоді як лишай - це реакція частково імунного організму на реактивацію вірусу вітрянки, присутнього у організмі в латентній формі. Вітрянка є ендемічною, найчастіше страждають діти від 2 до 6 років. Хід захворювання зазвичай легкий та ускладнений тільки у дітей з імунною недостатністю. Рідкісні смертельні випадки показують різноманітні некротичні ураження головного мозку, легень (вітряночна пневмонія), нирок (геморагічний нефрит), селезінки, кісткового мозку та іноді кишкового тракту. Летальність від вітряної віспи нижче 0.1%. У рідкісних інфекціях у дорослих захворювання є більш важким, і ускладнення можна очікувати приблизно у 5% випадків.

Захворювання на оперізуєчий лишай є низького рівня зі збільшеною частотою та тяжкістю з віком. Зазвичай процес залишається локалізованим, генералізація часто зустрічається в стані імунодепресії. Фатальні випадки є дуже рідкісними і майже завжди викликані основним захворюванням.

Види	Захворювання	Симптоми	Механізм інфекції
Вірус вітряної віспи (VZV)	Вітряна віспа (первинна інфекція) Оперізуєчий лишай (вторинна інфекція)	Везикулярні висипання шкіри та слизових оболонок; екзантема Взагалі, оперізуєчий лишай демонструє більше запалення та деструктивних змін (наприклад, некроз, крововиливи)	Передається повітряно-крапельним шляхом - віруси спочатку реплікують в слизовій оболонці верхніх дихальних шляхів і потім поширюються гематогенно. Період інкубації: вітряна віспа 14-17 днів або оперізуєчий лишай, можливо, 7-18 днів

Наявність вірусної респіраторної інфекції може бути ідентифікована:

- Мікроскопією: барвник Гімза; електронна мікроскопія; IF
- Серологією: виявлення виробництва антитіл за допомогою ELISA

#### 2. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір Varicella zoster virus IgA ELISA призначений для якісного визначення антитіл класу IgA проти вірусу Varicella-Zoster в сироватці людини або плазмі (цитрат).

#### 3. ПРИНЦИП РОБОТИ ТЕСТУ

Якісне імуоферментне визначення антитіл класу IgA проти вірусу Varicella-Zoster (VZV) базується на методі ELISA.

Мікроролунки попередньо покриті антигенами вірусу Varicella-Zoster (VZV) для зв'язування відповідних антитіл зразка. Після промивання лунок, щоб видалити весь незв'язаний матеріал зразка, додається кон'югат анти-людський IgA-пероксидаза хрому (HRP). Цей кон'югат зв'язується з захопленими специфічними антитілами до вірусу вітряної віспи (VZV).

Імунний комплекс, утворений зв'язаним кон'югатом, візуалізується шляхом додавання субстрату Тетраметилбензидину (ТМБ), що дає синій продукт реакції. Інтенсивність забарвлення цього продукту пропорційна кількості специфічних IgA антитіл до вірусу Varicella-Zoster (VZV) у зразку. Сірчана кислота додається, щоб зупинити реакцію. Це створює жовтий колір кінцевої точки. Абсорбцію при 450 нм зчитують, використовуючи мікропланшетний ELISA зчитувач.

#### 4. МАТЕРІАЛИ

##### 4.1. Реагенти, що постачаються

- МТП Лунки з нанесеним вірусом Varicella-Zoster (VZV) (IgA):** 12 відривних 8-лункових смужок, покритих антигеном вірусу Varicella-Zoster (VZV); в алюмінієвій фользі.
  - SAMPLEDIL IgA Розчинник для зразків\*\*\*:** 1 пляшка, що містить 100 мл буфера для розведення зразків; РН 7,2 ± 0,2; жовтого кольору; готовий до використання; білий ковпачок.
  - TMB STOP Стоп-розчин:** 1 пляшка, що містить 15 мл сірчаної кислоти, 0,2 моль/л; готовий до використання; червоний ковпачок.
  - WASHBUF CONC Промивний розчин (20X концентрат)\*:** 1 пляшка, що містить 50 мл 20X концентрованого буфера (рН 7,2 ± 0,2) для промивання лунок; білий ковпачок.
  - ENZCONJ Анти-IgA Кон'югат вірусу вітряної віспи (VZV)\*\*:** 1 пляшка, що містить 20 мл антитіла кролика, кон'юговані з пероксидазою до IgA людини; фіолетового кольору, готовий до використання; чорний ковпачок.
  - TMB SUBS Субстратний розчин ТМБ:** 1 пляшка, що містить 15 мл 3,3',5,5'-тетра-метилбензидину (ТМБ); готовий до використання; жовтий ковпачок.
  - CONTROL + Позитивний контроль Вірусу вітряної віспи (VZV) IgA\*\*\*:** 1 пляшка, що містить 2 мл; жовтого кольору; готовий до використання; червоний ковпачок.
  - CONTROL CO Cut-off Контроль Вірусу вітряної віспи (VZV) IgA\*\*\*:** 1 пляшка, що містить 3 мл; жовтого кольору; готовий до використання; зелений ковпачок.
  - CONTROL - Негативний контроль Вірусу вітряної віспи (VZV) IgA\*\*\*:** 1 пляшка, що містить 2 мл; жовтого кольору; готовий до використання; синій ковпачок.
- \* містить 0,1% Бронідокс-Л після розведення  
\*\* містить 0,2% Бронідокс L  
\*\*\* містить 0,1% Катона

##### 4.2. Матеріали, що постачаються

- 1 тримач смужок
- 1 фольга для накривання
- 1 протокол випробувань

##### 4.3. Матеріали та обладнання, які необхідні, але не постачаються з набором

- Мікропланшетний зчитувач ELISA для вимірювання поглинання при 450/620 нм
- Інкубатор + 37 °C
- Ручне або автоматичне обладнання для промивання лунок
- Піпетки для внесення об'єму від 10 до 1000 мкл
- Вортексний змішувач
- Деіонізована або (свіжо) дистильована вода
- Одноразові пробірки
- Таймер

#### 5. СТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Реагенти стабільні до терміну придатності, зазначеного на етикетці при зберіганні при 2-8 °C.

#### 6. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Дуже важливо привести всі реагенти, зразки та контролю до кімнатної температури (20-25 °C) перед початком випробувань!

##### 6.1. Відривні смужки

Готові до використання відривні смужки з нанесеним антигеном Varicella-Zoster Virus (VZV). Зберігати при температурі від 2 до 8 °C. *Негайно після видалення смужок решту смужок слід помістити разом з осушувачем, що додається і зберігати при температурі від 2 до 8 °C; стабільність до закінчення терміну придатності.*

##### 6.2. Анти-IgA Кон'югат Вірусу вітряної віспи (VZV)

У пляшці міститься 20 мл розчину з пероксидазою хрому з анти-людським IgA, буфером, стабілізаторами, консервантами та інертним фіолетовим барвником. Розчин готовий до використання. Зберігати при температурі від 2 до 8 °C. *Після першого відкриття стабільний до закінчення терміну при зберіганні при 2-8 °C.*

### 6.3. Контролі

У пляшках із маркуванням Позитивний, Cut-off та Негативний Контроль є готовий до використання контрольний розчин. Він містить 0,1% Катона і повинен зберігатися при температурі від 2 до 8 °С. Після першого відкриття розчин залишається стабільним до закінчення терміну при зберіганні при 2-8 °С.

### 6.4. Розчинник для зразків IgA

У пляшці міститься 100 мл фосфатного буфера, стабілізаторів, консервантів та інертного жовтого барвника. Він використовується для розведення зразка пацієнта. Цей готовий до використання розчин слід зберігати при температурі від 2 до 8 °С. Після першого відкриття розчин залишається стабільним до закінчення терміну при зберіганні при 2-8 °С.

### 6.5. Промивний розчин (20 X Концентрат)

У пляшці міститься 50 мл концентрованого буфера, миючих засобів та консервантів. Розбавте промивний розчин 1+19, наприклад, 10 мл миючого розчину + 190 мл свіжої та очищеної редистильованої води. Розбавлений буфер стабільний протягом 5 днів при кімнатній температурі. Кристали в розчині зникають при прогріванні до + 37 °С на водняній бані. Після першого відкриття концентрат стабільний до закінчення терміну придатності.

### 6.6. Субстратний Розчин ТМБ

У пляшці міститься 15 мл системи тетраметилбензидин/пероксид водню. Реагент готовий до використання, його необхідно зберігати при температурі від 2 до 8 °С, захищати від світла. Розчин повинен бути безбарвним або мати легкий блакитний відтінок. Якщо субстрат має синій колір, він може бути забруднений і його слід викинути. Після першого відкриття стабільний до закінчення терміну при зберіганні при 2-8 °С.

### 6.7. Стоп Розчин

У пляшці міститься 15 мл 0.2 М розчину сірчаної кислоти (R 36/38, S 26). Цей готовий до використання розчин слід зберігати при температурі від 2 до 8 °С. Після першого відкриття стабільний до закінчення терміну придатності.

## 7. ПІДГОТОВКА ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКА

Використовуйте зразки людської сироватки або плазми (цитратної) з цим аналізом. Якщо аналіз проводиться протягом 5 днів після збору зразка, зразки слід зберігати на 2 - 8 °С; інакше вони повинні бути аліквовані та зберігатися за умов глибокої заморозки (від -20 до -70 °С). Якщо зразки зберігаються у замороженому вигляді, перед тестуванням добре перемішайте розморожені зразки. Уникайте повторного заморожування та відтавання. Не рекомендується інактивація теплом зразків.

### 7.1. Розведення зразка

Перед аналізом всі зразки слід розбавити 1+100 з Розчинником для зразків IgA. Внесіть 10 мкл зразка та 1 мл Розчинника для зразка IgA в пробірку, щоб отримати розчин 1+100 і ретельно перемішайте на Vortex.

## 8. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

### 8.1. Підготовка до тесту

Будь ласка, уважно прочитайте протокол випробувань перед виконанням аналізу. Надійність результатів залежить від суворого дотримання тестового протоколу, як описано. Наступна процедура тестування підтверджена лише для ручної процедури. При проведенні тесту на автоматичних системах ELISA ми рекомендуємо збільшити кількість кроків промивки від трьох до п'яти та об'єм миючого розчину від 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефектів промивання. Перед початком аналізу необхідно встановити план внесення та ідентифікації для всіх зразків та контролів в таблиці результатів, наданій в комплекті. Виберіть потрібну кількість мікротитрувальних смужок або лунок та розмістіть їх у тримачі.

Розмістіть принаймні:

- 1 лунку (наприклад, A1) для бланку субстрату,
- 1 лунку (наприклад, B1) для негативного контролю,
- 2 лунки (наприклад, C1 + D1) для контролю cut-off та
- 1 лунку (наприклад, E1) для позитивного контролю.

Рекомендовано визначити контролі та зразки пацієнтів у двох примірниках, якщо це необхідно.

Виконайте всі етапи аналізу у вказаному порядку та без значних затримок між кроками. Для внесення кожного контролю та зразка слід використовувати чистий одноразовий наконечник.

Налаштуйте інкубатор на + 37 ° ± 1 °С.

1. Внесіть 100 мкл контролів та розбавлених зразків у відповідні лунки. Залиште лунку A1 для бланку субстрату.
2. Накрийте лунки фольгою, що поставляється в комплекті.
3. **Інкубуйте протягом 1 години ± 5 хв при +/- 1 °С.**

4. Після завершення інкубації зніміть фольгу, видаліть вміст лунок та триразово промивайте кожну лунку з 300 мкл розчину. Уникайте переливів з реакційних лунок. Час замочування між кожним циклом промивання повинен становити >5 сек. Наприкінці ретельно видаліть залишкову рідину, постукавши смужками об папір перед наступним кроком!

*Примітка: Процедура промивки є критичною! Недостатнє промивання приводить до поганої точності та помилково підвищених значень абсорбції.*

5. Внесіть 100 мкл кон'югату VZV-анти-IgA в усі лунки, крім лунки для бланку (наприклад, A1). Накрийте фольгою.
6. **Інкубуйте протягом 30 хв. при кімнатній температурі. Не піддавайте впливу прямих сонячних променів.**
7. Повторіть крок 4.
8. Внесіть 100 мкл Субстратного розчину ТМБ у всі лунки.
9. **Інкубуйте рівно 15 хвилин при кімнатній температурі в темряві.**
10. Внесіть 100 мкл Стоп-розчину у всі лунки в тому ж порядку і з тією ж швидкістю, що і для Субстратного розчину ТМБ. Будь-який синій колір, що розвивається під час інкубації, перетворюється на жовтий.  
*Примітка: Високо позитивні зразки пацієнтів можуть викликати темні осади хромогену! Ці осади впливають на читання оптичної щільності. Рекомендується попереднє розведення зразка фізіологічним розчином хлориду натрію, наприклад 1+1. Потім розбавте зразок 1+100 буферним розчином і помножьте результати в U на 2.*
11. Виміряйте поглинання зразка при 450/620 нм протягом 30 хвилин після додавання Стоп розчину.

## 8.2. Вимірювання

Налаштуйте мікропланшетний зчитувач ELISA на **нуль**, використовуючи **субстрат бланк в лунці A1**.

*Якщо - з технічних причин - зчитувач ELISA не може бути налаштований на нуль, використовуючи субстрат бланк в лунці A1, відніміть значення абсорбції лунки A1 з усіх інших значень оптичної абсорбції, вимірних для отримання надійних результатів!*

**Виміряйте поглинання** всіх лунок при **450 нм** та зафіксуйте значення абсорбції для кожного контролю та зразка пацієнта в плані розподілу та ідентифікації.

*Рекомендовано зчитування з подвійною довжиною хвилі з використанням довжини хвилі 620 нм як референтної.*

Де це можливо, обчисліть **середні значення поглинання** всіх дублікатів.

## 9. РЕЗУЛЬТАТИ

### 9.1. Виконати критерії перевірки

Для того, щоб аналіз вважався дійсним, необхідно виконати наступні критерії:

- **Субстрат бланк** в A1: Значення абсорбції < **0.100**.
- **Негативний контроль** в B1: Значення абсорбції < **0.200** та < **cut-off**.
- **Контроль Cut-off** в C1 та D1: Значення абсорбції **0.150 - 1.30**.
- **Позитивний контроль** в E1: Значення абсорбції < **cut-off**.

Якщо ці критерії не виконуються, тест недійсний і повинен бути повторений.

### 9.2. Розрахунок результатів

Значення Cut-off - це середнє значення поглинання визначень контролів Cut-off.

*Приклад: Значення абсорбції контролю Cut-off 0.44 + значення абсорбції контролю Cut-off 0.42 = 0.86 / 2 = 0.43*

*Cut-off = 0.43*

### 9.3. Інтерпретація результатів

Зразки вважаються **ПОЗИТИВНИМИ**, якщо значення абсорбції вище ніж 10% над значенням Cut-off.

Зразки з величиною поглинання на 10% вище або нижче значення Cut-off не слід вважати явно позитивним чи негативним.

→ **сіра зона**

Рекомендується повторювати тест ще раз через 2-4 тижні з новим зразком. Якщо результати другого тесту знову знаходяться в сірій зоні, зразок вважається **НЕГАТИВНИМ**.

Зразки вважаються **НЕГАТИВНИМИ**, якщо значення абсорбції нижче, ніж 10 % від значення Cut-off.

### 9.3.1. Результати в Одиницях

Значення поглинання (середнє) пацієнта x 10/Cut-off = [Одиниці = U]

Приклад: 1.786 x 10/0.43 = 42 U (Одиниць)

Cut-off: 10 U

Сіра зона:	9-11	U
Негативний:	<9	U
Позитивний:	> 11	U

## 10. СПЕЦИФІЧНІ РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 10.1 Точність

В аналізі	n	Середнє	CV (%)
Позитивна сироватка	7	0.65	5.3

Між аналізами	n	Середнє	CV (%)
Позитивна сироватка	3	0.68	3.8

### 10.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність аналізу давати негативний результат за відсутності конкретного аналізу.

Становить > 90%.

### 10.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як вірогідність аналізу давати позитивний результат у присутності конкретного аналізу.

Становить > 90%.

### 10.4 Інтерференції

Інтерференції з гемолітичною, ліпемічною або жовтяничною сироватками не спостерігаються до концентрації 10 мг/мл гемоглобіну, 5 мг/мл тригліцеридів та білірубину 0.2 мг/мл.

**Примітка:** Результати відносяться до груп досліджених зразків; це не гарантована специфікація.

## 11. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Бактеріальні забруднення або повторні цикли заморожування-розморожування зразка можуть впливати на значення поглинання. Діагноз інфекційного захворювання не повинен встановлюватися на основі єдиного результату тесту. Точний діагноз має враховувати клінічну історію, симптоматику та серологічні дані.

У пацієнтів з імунodefіцитом та у новонароджених серологічні дані мають обмежене значення.

## 12. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Згідно з Європейською директивою 98/79/ЄС, параграф 2b статті 1 використання медичних пристроїв для діагностики *in vitro* розробляється виробником для забезпечення придатності, продуктивності та безпеки продукту. Тому процедура тестування, інформація, запобіжні заходи та попередження в інструкціях для використання повинні суворо дотримуватися. Використання тестових наборів з аналізаторами та аналогічним обладнанням має бути перевірено. Будь-яка зміна конструкції, складу та процедури випробувань, а також для будь-якого використання в комбінації з іншими продуктами, не схваленими виробником, не дозволено; сам користувач несе відповідальність за такі зміни. Виробник не несе відповідальності за помилкові результати та інциденти з цих причин. Виробник не несе відповідальності за будь-які результати шляхом візуального аналізу зразків пацієнта.
- Тільки для діагностичного використання *in-vitro*.
- Всі компоненти людського походження, що використовуються для виробництва цих реагентів, були протестовані на антитіла проти ВІЛ, антитіла проти ВГС та HBsAg, і були визнані не реактивними. Тим не менше, всі матеріали все ще повинні розглядатися і оброблятися як потенційно інфекційні.
- Не обмінюйте з реагентами або смужками з різних партій.
- Не слід використовувати реагенти інших виробників разом із реагентами цього тест-набору.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
- Використовуйте лише чисті піпетки, дозатори та лабораторні вироби.
- Не обмінюйте ковпачки з різних флаконів реагентів, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Закривайте флакони реагентів негайно після використання, щоб уникнути випаровування та мікробного забруднення.
- Після першого відкриття та наступного зберігання перевірте кон'югат і контрольні флакони на наявність мікробного забруднення перед подальшим використанням.
- Щоб уникнути перехресного забруднення та помилково підвищених результатів, піпетуйте зразки пацієнтів і вносьте кон'югат без розбрикування всередину дна лунки.
- ELISA призначені тільки для кваліфікованого персоналу, який добре знайомий з належною лабораторною практикою.

**ПОПЕРЕДЖЕННЯ:** При використанні в отриманій концентрації Bronidox L навряд чи є токсикологічним при контакті з шкірою та слизовою оболонкою!

**ПОПЕРЕДЖЕННЯ:** Сірчана кислота подразнює очі і шкіру. Тримайте в недоступному для дітей місці. При контакті з очима ретельно промити водою та звернутися до лікаря!

### 12.1. Утилізація

Залишки хімікатів та препаратів, як правило, розглядаються як небезпечні відходи. Утилізація цього виду відходів регулюється національними та регіональними законами та правилами. Зверніться до місцевої влади або компанії щодо утилізації відходів, які нададуть поради щодо утилізації небезпечних відходів.

## 13. ІНФОРМАЦІЯ ПО ЗАМОВЛЕННЮ

Кат. №: 30114080 Varicella zoster virus IgA ELISA (96 Визначень)

**БІБЛІОГРАФІЯ** (Див. оригінал інструкції).



**ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР**

ТОВ «ДІАМЕБ»  
вул. Чорновола, 97  
м. Івано-Франківськ, 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)