



Набор для определения КРАСНУХИ IgG Rubella IgG KIT

Кат. № : 1301
Количество тестов : 96
Производитель : DAI (USA)

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

Методика 20/11/01

ПРИМЕНЕНИЕ.

Набор Rubella IgG предназначен для определения серологического статуса пациента к вирусу краснухи. Он также используется для оценки пар сывороток на значительное увеличение специфического IgG, как показателя недавней или действующей инфекции вируса краснухи.

ВВЕДЕНИЕ.

Краснуха является вирусом герпеса. В основном краснуха рассматривается как детская болезнь. Однако, материнская инфекция может передаваться через плаценту к плоду и вызывать врожденную краснуху. Врожденная краснуха может приводить к хроническим заболеваниям сердца, замедлению роста, злокачественным образованием и другим аномалиям. Эти симптомы могут проявляться и при рождении и позднее.

Для уменьшения риска таких осложнений, необходимо проводить точный серологический анализ для определения серологического статуса беременной женщины. Присутствие специфического к краснухе IgG в крови свидетельствует о иммунности к краснухе. Тестированные женщины, которые не-иммунные могут быть проверены до возможности вакцинации. Увеличение IgG краснухи указывает на острую инфекцию и дифференцирует краснуху от других экземных заболеваний. При подозрении недавней инфекции у женщин она должна проконсультироваться относительно последствий врожденной инфекции.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА.

Очищенный антиген, привитый к поверхности микрочаеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в ячейки и специфическое антитело краснуха IgG, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он связывается с комплексом антитело-антиген. Остатки ферментного конъюгата вымываются и добавляются субстрат и хромоген. Каталитическая реакция останавливается в специфическое время.

Интенсивность вырабатываемого цвета пропорциональна количеству специфического IgG антитела в образце. Результаты считаются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Лунки микропланшета**, покрытые очищенным антигеном краснухи (12x8 лунок).
2. **Ферментный конъюгат**, раствор красного цвета – 1 фл. 12 мл.
3. **Отрицательный калибратор**: 0 Ед/мл, натуральная крышка – 150 мкл/фл.
4. **Калибратор величины исключения**: 15 Ед/мл, желтая крышка – 150 мкл/фл. Индекс краснухи IgG = 1,0
5. **Положительный калибратор**: 30 Ед/мл, красная крышка (150 мкл / флакон).
6. **Положительный калибратор**: 100 Ед/мл, зеленая крышка – 150 мкл/флакон
7. **Отрицательный контроль**: границы указаны на флаконе, голубая крышка – 150 мкл/флакон
8. **Положительный контроль**: границы указаны на ярлыке, коричневая крышка – 150 мкл/флакон
9. **Моющий концентрат 10x**: белая крышка – 1 бутылка 100 мл
10. **Разбавитель образцов**: раствор голубого цвета – 1 бутылка 22 мл
11. **Хромоген субстрат**, ТМВ, янтарная бутылка – 1 флакон, 15 мл
12. **Стоп раствор**: 2 N HCl– 1 флакон, 12 мл.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ.

1. Реагенты, входящие в состав набора, следует хранить при 2-8°C.
2. Микропланшет хранить в закрытой упаковке с осушителем. Рекомендуется использовать ячейки в течении 4 недель после вскрытия
3. Все реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время их хранения или использования.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

1. Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ (1+2), ни один из известных методов не может дать полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами, как с потенциально инфекционным материалом.
2. В целях безопасности в лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой, пипетировать компоненты набора ртом.
3. Не использовать для проведения анализа реагенты разных серий.
4. Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом и медью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим

количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

СБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Собрать образцы крови и отделить сыворотку.
2. Образцы можно хранить при 2-8⁰С не более одной недели или замороженными в течении 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб.
3. Если есть подозрения на краснуху, образцы крови необходимо взять в течении трех дней после начала сыпи и второй образец взять двумя неделями позже. Тестируйте два образца одновременно.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ.

1. Приведите все компоненты набора и анализируемые образцы до комнатной температуры (20-25⁰С) и аккуратно перемешать.
2. Промывочный буфер развести дистиллированной или деионизированной водой до общего объема 1 литр

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА.

1. Поместить нужное количество стрипов в штатив.
2. Развести разбавителем для образцов в соотношении 1:40, добавляя 5 мкл образца, отрицательный контроль, положительный контроль и калибраторы + 200 мкл разбавителя для образцов. Тщательно перемешать.
3. В соответствующие лунки внести по 100 мкл разведённых образцов сыворотки, калибратора и контролей. Для определения фона внести 100 мкл разбавителя для образцов в лунку 1А. Удалить пузырьки воздуха из жидкости и тщательно перемешать содержимое лунок. Инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
4. Удалить жидкость из лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
5. Внести в каждую лунку по 100 мкл ферментного конъюгата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
6. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
7. Внести 100 мкл ТМВ хромогенного субстрата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
8. Внести 100 мкл стоп раствора для остановки реакции.
9. Убедиться, что перед помещением планшета в ридер ни в одной лунке нет пузырьков воздуха.
10. С помощью ридера измерить оптическую плотность лунок при 450 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

1. Вычислите среднее значение дубликатов калибратора x_c .
2. Вычислите среднее дубликатов положительного контроля, отрицательного контроля и образцов сыворотки.
3. Вычислите индекс краснухи IgG каждого определения делением среднего значения каждого образца на среднее значение калибратора, x_c .

Пример типичных результатов.

Индекс величины исключения калибратора краснухи IgG = 1,0

ОП калибратора = 0,650, 0,634 $x_c=0,642$

ОП образца пациента = 1,201, 1,253 $x_s=1,227$

Индекс краснухи IgG = 1,227/0,642 = 1,91

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА КРАСНУХИ IgG

Для количественной оценки уровня анти- краснуха IgG положительных образцов в Ед/мл, на оси Y на графике откладывается ОП калибратора и положительного контроля против их соответствующей концентрации краснуха IgG 0, 15, 30 и 100 Ед/мл на оси X. Уровень в сыворотке пациента считывается с графика, используя их индивидуальные величины ОП.. Например: смотрите оригинал инструкции.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.

Ход анализа можно считать удовлетворительным, если выполняются следующие требования:

1. ОП бланка реагента с микропланшетного ридера должна быть меньше 0,250
2. Если ОП калибратора будет меньше 0,250, тест считается не действительный и его нужно повторить
3. Индекс краснухи IgG для отрицательного и положительного контроля должны быть в границах, указанных на ярлыке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: индекс краснухи IgG = 0,90 или ниже является сероотрицательным для антитела IgG вируса краснухи (<13 Ед/мл)

Сомнительный: индекс краснуха IgG 0,91-0,99 является сомнительным. Образцы следует тестировать повторно.

Положительный: индекс краснухи IgG 1,00 или выше или значение Ед выше чем 15 является сероположительным на IgG антитело к вирусу краснухи. Это указывает на предварительное выделение к вирусу краснухи (>15 Ед/мл).

ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. Не используйте один образец в целях диагностики недавней инфекции.
2. Образцы, полученные слишком рано во время первичной инфекции, могут не содержать определяемого уровня антитела.
3. Как и для всех серологических анализов, результаты теста обычно используются как вспомогательные к клинической картине пациента и другим диагностическим процедурам.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.**Специфичность и чувствительность**

Для оценки специфичности и чувствительности были использованы образцы 117 пациентов. Результаты данного теста сравнивались с коммерческим набором ELISA.

		Установленный ELISA			
		N	E	P	Всего
DAI	N	71 (D)	0	0 (B)	71
	E	0	3	0	4
	P	0 (C)	1	41 (A)	42
	Всего	71	4	41	117

Чувствительность = $A / (A+B) = 41 / (41+0) = 100\%$

Чувствительность = $D / (C+D) = 71 / (71+0) = 100\%$

Точность = $(A + D) / (A+B+C+D) = 112 / 112 = 100\%$

Точность.

Точность была оценена тестированием трех разных сывороток 3 репликантов три дня. Внутри и между тестовая точность показана ниже:

	Отрицательный, %	Низко положительный, %	Положительны й, %
Внутри тестовая	9,1	8,5	6,4
Между тестовая	10,5	8,9	7,5

СУМИРОВАНИЕ АНАЛИЗА

Шаг	(20-25 ⁰ С при комн. темп.)	Объем	Время инкубации
1	Разбавления образца 1:40=5 мкл/200 мкл		30 минут
2	Разбавленные образцы, контроли и калибратор	100 мкл	
3	Моющий буфер (3 раза)	350 мкл	30 минут
4	Энзимный конъюгат	100 мкл	
5	Моющий буфер (3 раза)	350 мкл	30 минут
6	ТМВ субстрат	100 мкл	
7	Стоп раствор	100 мкл	
8	Считывание ОП при 450 нм		

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: (0342) 775122
Факс: (0342) 775612
E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com