



Набор для определения Вируса Епштейн-Бар ядерного антигена, IgM EBNA Ig M

Кат. номер : 1426
Количество : 96
Производитель : DAI (США)

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

Методика от 29-06-2004

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для определения IgM ядерного антигена-1 к вирусу Епштейн-Барра в сыворотке человека (EBNA-1 IgM). Иммуноферментный анализ (ELISA) используется для определения IgM антитела к вирусу Епштейн-Барра в человеческой сыворотке или плазме.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Очищенный антиген EBNA-1 привитый к поверхности микроячеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в ячейки, специфическое анти-EBNA антитело, если присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления энзимного конъюгата, он связывается с антитело-антиген комплексом. Излишки конъюгата вымываются и добавляется субстрат. Каталитическая реакция энзимного конъюгата останавливается в определенное время. Интенсивность цвета пропорциональна количеству специфического антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Стрипы микропланшета:** ячейки с привитым антигеном **EBNA-1** – 12x8 ячеек
2. **Абсорбирующий раствор:** черная крышка, 1 фл., 22 мл.
3. **Моющий концентрат:** 10x концентрат, белая крышка – 1 бут./100 мл
4. **ТМВ хромогенный раствор:** янтарная бутылка – 1 фл./15 мл
5. **Энзимный конъюгат:** раствор красного цвета – 1 фл./12 мл
6. **Отрицательный контроль:** диапазон указан на этикетке, натуральная крышка – 1 фл./150 мкл
7. **Калибратор величины исключения:** желтая крышка – 1 фл./150 мкл
8. **Положительный контроль:** диапазон указан на крышке, красная крышка, – 1 фл./150 мкл
9. **Стоп раствор:** 2N HCl – 1 фл./12 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Обращайтесь с реагентами как с потенциально инфицированными.
2. Не пипетируйте ртом. Не едите, 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 ХРАНЕНИЕ 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.

ПРИГОТОВЛЕНИЯ ДО АНАЛИЗА

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

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите необходимое количество стрипов в держатель.
2. Приготовьте 1:21 разбавление добавлением 10 мкл тестового образца, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора в 200 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно перемешайте.
3. Внесите 100 мкл разбавленной сыворотки, калибратора и контролей в соответствующие ячейки. Для реагента бланка, внесите 100 мкл разбавителя образца в ячейку A1. Встряхните держатель для удаления пузырей и перемешайте. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
4. Удалите жидкость с ячеек. Повторите промывание моющим буфером три раза.
5. Внесите 100 мкл энзимного конъюгата в каждую ячейку и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
6. Удалите энзимный конъюгат с ячеек. Повторите промывание моющим буфером три раза.
7. Внесите 100 мкл ТМВ субстрат и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
8. Добавьте 100 мкл стоп раствора для остановки реакции. Убедитесь, что нет пузырей в ячейках перед считыванием.
9. Считайте ОП ридером при 450 нм.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите среднее значение дубликатов калибратора x_c .
2. Вычислите среднее значение дубликатов положительного контроля, отрицательного контроля и образцов пациента.
3. Вычислите индекс EBNA-1 IgM каждого определения делением средних значений каждого образца на среднее значение калибратора, x_c .

Пример типичных результатов:

ОП калибратора = 0,670, 0,726 $x_c=0,698$
Величина исключения калибратора EBNA-1IgM индекс=1,0
ОП образца = 1,055, 1,123 $x_s=1,089$
Индекс EBNA-1 IgM = 1,089/0,698 = 1,56

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Анализ будет действительный при выполнении следующих условиях:

1. Значение ОП реагента бланка относительно воздуха должно быть меньше, чем 0,150.
2. Если значение ОП калибратора ниже, чем 0,250, тест не действительный и его необходимо повторить.
3. Индекс EBNA-1 IgM для отрицательного и положительного контроля должен быть в диапазоне, указанном на этикетке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: Индекс EBNA-1 IgM равен 0,90 или меньше.

Сомнительный: Индекс EBNA-1 IgM равен 0,91-0,99 является сомнительным. Образцы следует тестировать повторно.

Положительный: Индекс EBNA-1 IgM равен 1,00 или выше.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность, специфичность и точность

90случайных сывороток пациента были протестированы данным тестом и другим доступным на рынке ELISA методом. Результаты показаны ниже:

		Рекомендуемый ELISA			
		N	E	P	Всего
DAI	N	32(D)	0	0(B)	32
	P	0 (C)	0	4(A)	4
	Всего	32	0	4	36

Относительная чувствительность = $A / (A+B) = 4/4 = 100\%$
 Относительная специфичность = $D / (C+D) = 32/32 = 100\%$
 Точность (полное согласование) = $(A+D) / (A+B+C+D) = 36/36 = 100\%$

Гистограмма:

215 случайных образцов были определены данным анализом. Результаты теста были вычислены как индекс IgG при использовании выбранной установленной сыворотки как Индекс 1 IgG. Распределение частоты против значения индекса IgG представлены в оригинале инструкции на англ. языке.

Оценка значения величины исключения

10,7% (23) образцов имеют IgG индекс ниже 1.
 Среднее значение = 0,340 CO=0,287
 Индекс 1 IgG (значение величины исключения)= Среднее значение + 2CO

88,9% (191 образцов) имеют значение индекса IgG выше 1.
 Среднее значение = 3,102 CO=1,042
 Коэффициент P/N=Среднее положительного / среднее отрицательного = $3,102/0,340=9,124$

Ожидаемые значения и распространенность

57 образцов случайных доноров крови, которые не имели симптомов, были протестированы данным анализом. 10 были обнаружены как положительные (17,5%) и 47 были обнаружены как отрицательные (82,5%). Распространенность зависит от разных факторов, как географическое расположение, возраст, социальноэкономический статус, раса, тип используемого анализа, сбора образцов и проведения процедуры, клинической и эпидемиологической истории.

Точность

Точность была определена оценкой трех разных сывороток восьми репликантов за период одна неделя.

	Отрицат.	Низко положит.	Положит.
Внутри тестовый	10,8%	6,5%	4,9%
Между тестовый	14,5%	8,6%	7,5%

ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. Величины, полученные в этом анализе, предназначены только для диагностических целей. Результаты пациентов должны интерпретироваться в соответствии с клинической историей и данными других тестов.
2. Гетеротипический IgM ответ к EBV может возникать в пациентов, инфицированных CMV и также в пациентов, инфицированных Варицелла-Зостер.
3. Положительный EBNA-1 IgM результат в основном предполагает диагноз острого ИМ. Для оценки диагноза, однако, рекомендуется, что б образцы тестировались на другие EBV антитела как EA-D, EBNA-1 IgG и VCA IgM для определения преобладающего антитела.
4. Результаты, полученные для иммунокомпромиссных индивидов должны интерпретироваться с осторожностью.

СУММИРОВАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА

Шаг	(20-25°C при комн. темп.)	Объем	Время инкубации
1	Разбавления образца 1:21=10 мкл/200 мкл		
2	Разбавленные образцы, контроли и калибратор	100 мкл	30 минут
3	Моющий буфер (3 раза)	350 мкл	
4	Энзимный конъюгат	100 мкл	30 минут
5	Моющий буфер (3 раза)	350 мкл	
6	TMB субстрат	100 мкл	30 минут
7	Стоп раствор	100 мкл	
8	Считывание ОП при 450 нм		

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

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