



## Набор ИФА для определения антител класса IgG в сыворотке человека к вирусу КРАСНУХИ

Каталог. № : EIA-1800  
Количество : 96  
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 09-07-2010

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

**ТОЛЬКО ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ в исследовательских целях**

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА

1. Разведение образца 1:40  
5 мкл / 200 мкл
2. Три инкубации при 37°C  
растворенный ферментный ТМБ-реагент  
образец конъюгат (готов к использованию)  
100 мкл 100 мкл 100 мкл  
30 мин. 30 мин. 15 мин.
3. Остановка реакции добавлением 100 мкл кислоты. Считывание оптической плотности при 450 нм.

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Rubella IgG ELISA набор предназначен для использования при определении серологического статуса пациента на наличие антител к вирусу краснухи. Так же используется для определения в парных сыворотках присутствия существенно повышенного IgG краснухи как признака текущей или недавней инфекции вирусом краснухи.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

очищенный антиген краснухи нанесен на поверхность микролунок. Разведенная сыворотка пациента добавляется в лунки и антитела IgG краснухи, если есть, связываются с антигеном во время инкубации. После промывки лунок добавляются антитела IgG человека конъюгированные с пероксидазой хрена и инкубируются при 37°C 30 минут. Затем промыть лунки для удаления несвязанного конъюгата. Затем добавить в микротитровальные лунки раствор ТМБ реагента. В определенное время каталитическая реакция ферментного конъюгата прекращается. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству IgG антител в образце. Результат считывается микротитровальным ридером в параллельном сравнении с калибраторами и контролями.

### РЕАГЕНТЫ

**Материалы, поставляемые с набором:**

- Микротитровальные лунки, покрытые антигеном краснухи (12x8 лунок)
- Ферментный конъюгат (красного цвета); красный колпачок. 1 флакон (12 мл).
- Раствор для разведения образца (зеленого цвета): 1 флакон (22 мл).
- Отрицательный калибратор: 0 МЕ/мл. бесцветный колпачок. (150 мкл/флакон).
- Cut-off калибратор: 15 МЕ/мл. Желтый колпачок. (150 мкл/флакон).
- Положительный калибратор: 30 МЕ/мл. Красный колпачок. (150 мкл/флакон).
- Положительный калибратор: 100 МЕ/мл. Зеленый колпачок. (150 мкл/флакон).
- Отрицательный контроль: диапазон указан на этикетке. Голубой колпачок (150 мкл/флакон).
- Положительный контроль: диапазон указан на этикетке. фиолетовый колпачок (150 мкл/флакон).
- Буферный концентрат для промывки (20x): 1 флакон (50 мл).
- ТМБ реагент (готов к использованию): 1 флакон (11 мл).
- Стоп раствор (1N HCl): бесцветный колпачок. 1 флакон (11 мл).

### ХРАНЕНИЕ ТЕСТОВЫХ НАБОРОВ И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

1. Хранить набор при 2-8°C.
2. Микротитровальные лунки не вскрывать, хранить в сухом пакете с сиккативом.
3. Реагенты стабильны до окончания срока годности набора.
4. Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца, яркого света при хранении или использовании.

### ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

1. Отобрать образцы крови и выделить сыворотку.
2. Образцы можно хранить в холоде при 2-8°C до 7 дней или заморозить на срок до 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки.
3. Если есть клинические подозрения на краснуху, образцы крови должны быть взяты в течение 3 дней после появления сыпи, а второй образец должен быть взят, по меньшей мере, через две недели. Обе сыворотки тестируются на антитела одновременно.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Все реагенты довести до комнатной температуры (20-25°C) перед использованием.
2. Развести 1 объем промывочного буфера (20x) 19 объемами дистиллированной воды. Например, развести 50 мл промывочного буфера (20x), чтобы приготовить 1000 мл промывочного буфера (1x). Промывочный буфер стабилен в течение 1 месяца при температуре 2-8°C. Хорошо взболтать перед использованием.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместить в держатель требуемое количество лунок с покрытием.
2. Приготовить 1:40 раствор тестовых образцов, отрицательный контроль, положительный контроль, калибратор, добавив 5 мкл образца к 200 мкл раствора для разведения образцов. Хорошо смешать.
3. Раскапать по 100 мкл разведенной сыворотки калибратора и контролей в соответствующие лунки. В бланковую лунку добавить 100 мкл абсорбирующего раствора (лунка 1A). Постучать по держателю, чтобы удалить пузырьки из жидкости и хорошо смешать.
4. Инкубировать при 37°C в течение 30 минут.
5. В конце инкубации удалить жидкость из всех лунок. *Промыть и вылить содержимое микротитровальных лунок 5 раз разведенным промывочным буферным раствором (1x).*
6. Раскапать по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Осторожно смешивать в течение 10 секунд.
7. Инкубировать 37°C в течение 30 минут.
8. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок. *Промыть и вылить содержимое микротитровальных лунок 5 раз разведенным промывочным буферным раствором (1x).*
9. Раскапать по 100 мкл ТМБ реагента в каждую лунку. Осторожно смешивать в течение 10 секунд.
10. Инкубировать при 37°C в течение 15 минут.
11. Добавить 100 мкл стоп-раствора (1N HCl), чтобы прекратить реакцию.
12. Осторожно смешивать в течение 30 секунд. *Важно удостовериться, что синее окрашивание полностью сменяется желтым.*

**Примечание:** Перед считыванием в лунках не должно быть пузырьков воздуха!

13. Снимать показания по оптической плотности (ОП) при 450 нм в течение 15 минут с помощью микротитровального ридера.

### ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Подсчитать среднее значение калибратора cut-off (15 МЕ/мл) ( $x_c$ ).
2. Подсчитать среднее значение положительного контроля ( $x_p$ ), отрицательного контроля ( $x_n$ ) и образцов пациентов ( $x_s$ ).
3. Подсчитать коэффициент IgG краснухи для каждого определения разделив средние значения каждого образца ( $x$ ) на среднее значение калибратора ( $x_c$ ).

### Пример стандартных результатов

**Примечание:** значения приведены только в качестве иллюстрации и не должны использоваться для подсчета неизвестных. Каждый пользователь должен получить свои данные.

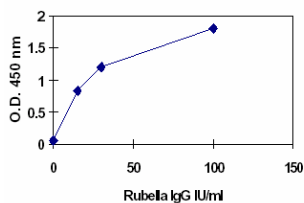
**Конфигурация Cut off калибратора IgG краснухи = 1.0**

1. Калибратор, ОП = 0,855, 0,816  $x_c = 0,835$

2. Отрицательный контроль, ОП = 0,199, 0,194       $x_n = 0,197$   
 коэфф-т IgG краснухи =  $x_n / x_c = 0,197/0,835 = 0,23$
3. Положительный контроль, ОП = 1,570, 1,558       $x_p = 1,564$   
 коэфф-т IgG краснухи =  $x_p / x_c = 1,564/0,835 = 1,87$
4. Образец пациента, ОП = 2,941, 2,884       $x_s = 2,913$   
 коэфф-т IgG краснухи =  $x_s / x_c = 2,913/0,835 = 3,49$

#### КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ IGG КРАСНУХИ

Для количественного определения уровня антител IgG краснухи положительных образцов в МЕ/мл, ОП cut-off'a и положительных калибраторов откладываются на оси Y графика напротив соответствующих концентраций антител IgG краснухи (0, 15, 30 и 100 МЕ/мл), отложенных на оси X. Показатели уровней в сыворотках пациентов считываются с графика с использованием их индивидуальных значений ОП. Например:



Rubella IgG (IU/ml)	A 450
0	0.061
15	0.914
30	1.327
100	1.843

**Примечание:** стандартная кривая приведена только в качестве иллюстрации и не может быть использована для расчета неизвестных. Каждый пользователь должен получить собственные данные и стандартную кривую.

#### ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

#### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
 Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
 Тел.: (0342) 775122  
 Тел/факс: (0342) 775612  
 E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)