

VZV-IgM-ELA Test PKS medac

Русский

CE

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Fehlandtstrasse 3
D-20354 Hamburg

ОТДЕЛ МАРКЕТИНГА

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Geschäftseinheit Diagnostika
Theaterstarsse 6
D-22880 Wedel

Телефон: ++49 / 4103 / 80 06-351

Факс: ++49 / 4103 / 80 06 – 359

АДРЕС

Телефон: ++ 49 / 4103 / 80 06 - 111

Факс: ++ 49 / 4103 / 80 06 - 113

VZV-IgM-ELA Test PKS medac

Энзиматический иммунологический анализ с Системой Контроля Раскапывания для определения антител класса IgM к *Varizella-Zoster virus (вирус ветряной оспы)* в сыворотке крови

Кат. № 101-PKS

Только для диагностики *in vitro*

ВВЕДЕНИЕ

Вирус *Varizella-Zoster (VZV)* принадлежит к семейству *Herpesviridae (герпесвирусов)*. Он состоит из одного двойного генома ДНК, нуклеокапсида, текумента и оболочки вируса. Первичное инфицирование (ветряная оспа) происходит, как правило, в детском возрасте. У иммунокомпетентных пациентов симптоматика выражена умеренно. У пациентов с подавленным или ослабленным иммунитетом инфицирование этим вирусом может привести к серьезным осложнениям: симптоматике со стороны ЦНС, пневмонии, вторичным бактериальным инфекциям.

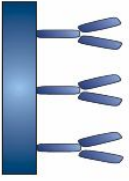
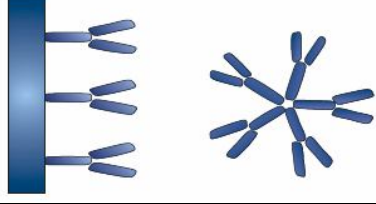
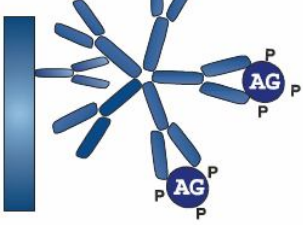

Доминирование серотипа у взрослых людей достигает приблизительно 95%. Характерной чертой вируса *Varizella-Zoster* является тот факт, что после первичного инфицирования он остается в сенсорных ганглиях спинного ствола на всю жизнь и вызывает скрытую инфекцию нервных клеток. Вследствие эндогенной реактивации вируса может произойти резкое проявление опоясывающего лишая (*Herpes Zoster*). Инфицирования ветряной оспой можно избежать с помощью вакцинации. Существующие на сегодняшний день вакцины продемонстрировали свою высокую эффективность для предупреждения инфекции. Диагностика опоясывающего лишая и ветряной оспы производится, как правило, на основе типичной клинической картины. При атипичном течении болезни и во время беременности необходимо провести лабораторно-диагностические исследования. Определение антител к VZV служит, прежде всего, для выяснения уровня иммунитета или успешности вакцинации, но также используется для подтверждения при подозрении на ветряную оспу или опоясывающий лишай. Определение интратекального синтеза специфических антител к VZV в рамках диагностики сыворотки и ликвора является частью дифференциально-диагностического установления острых инфекций, а также хронических заболеваний, затрагивающих ЦНС.

Положительный результат IgM к VZV говорит о наличии первичной инфекции, но может быть так же и проявлением эндогенной реактивации латентного вируса. Результаты IgM к вирусу *Varizella-Zoster* необходимо всегда интерпретировать с учетом значений IgG и IgA к этому вирусу, а также клинической симптоматики.

Тест VZV-IgM-ELA PKS medac обнаруживает в сыворотке IgM-антитела, которые направлены против вируса *Varizella-Zoster*. Тест проводится быстро и просто. Использование принципов μ -захвата и ELA (**фермент-меченый**

антиген) позволяет получить диагностические показания высокой специфичности и чувствительности.

ПРИНЦИП ТЕСТА

	Планшет, покрытый античеловеческим иммуноглобулином IgM
	IgM из проб связываются выборочно с лункой планшета
	VZV-специфичные IgM антитела связываются с пероксидазой VZV-IgM-ELA (AG – антиген, P – пероксидаза)
	Инкубация с ТМВ-субстратом (*). Реакция останавливается добавлением серной кислоты. Абсорбция определяется фотометрически.

Преимущества теста

- Отсутствие неспецифических реакций, ложноположительных результатов, вызванных ревматоидным фактором
- Высокие титры IgG не блокируют IgM
- Система контроля раскапывания (PKS) позволяет визуально отслеживать каждый этап раскапывания благодаря цветным реагентам
- Эффективность использования благодаря разделяемым ячейкам
- Подходит для работы на автоматическом открытом иммуноферментном анализаторе

СОДЕРЖИМОЕ УПАКОВКИ

Кат. № 101-PKS

1. **МТР**

Микропланшет: 12 стрипов по 8 лунок (с рамкой и влагопоглощающим герметичным алюминиевым пакетом), разделяемые на отдельные лунки, U-образной формы, покрыты козьим античеловеческим IgM иммуноглобулином, BSA, содержит рН-индикатор, готов к использованию.

2. **CONTROL -**

Отрицательный контроль: 1 флакон - 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, содержит, бычий сывороточный альбумин (BSA), фенол, ProClin™ 300 и гентамицина сульфат.

3. **CONTROL +**

Положительный контроль: 1 флакон - 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, содержит фетальную телячью сыворотку, бычий сывороточный альбумин, фенол, ProClin™ 300 и гентамицина сульфат.

4. **WB**

Моющий буфер: 1 флакон 100 мл, PBS/Tween (10x), pH 7,2 - 7,4, содержит ProClin™ 300.

5. **VIR-DIL**

Буфер для разведения проб: 1 флакон 110 мл PBS/Tween/BSA, pH 7,2 - 7,4, готов к использованию, содержит ProClin™ 300.

6. **ANTIGEN-DIL**

Антиген для разбавления антигена: 1 флакон 14 мл Tris/NaCl/Tween, готов к использованию, содержит ProClin™ 300.

7. **ANTIGEN**

VZV-ImG-ELA (энзиматический меченый антиген): 4 флакона, 3.0 мл, лиофилизированный, содержит фетальную телячью сыворотку.

8. **TMB**

TMB-субстрат: 1 флакон 10 мл, готов к использованию.

9. **STOP**

Стоп - раствор: 2 флакона по 11 мл каждый, 0.5 М раствор серной кислоты (H₂SO₄), готов к использованию.

1. ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Материал/реагент	Состояние	Хранение	Стабильность
Тест – упаковка	Не открыта	2 ... 8 °С	До истечения срока годности
Микропланшет	Открыт	2 ... 8 °С в пакете с влагопоглотителем	6 недель
Контроли	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
Моющий буфер	разведен	2 ... 8 °С	6 недель
Буфер для разведения проб	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
Буфер для разведения антигена	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
VZV-IgM-ELA	Готов к использованию	2 ... 8 °С	7 дней
		≤ -18 °С*	6 недель
ТМВ-субстрат	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
Стоп - раствор	Открыт	2 ... 8 °С	До истечения срока годности

*аликвотировать и повторно не замораживать.

Не использовать реагенты по истечении срока годности.

2. ДОПОЛНИТЕЛЬНО НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ

2.1. Вода для инъекций (H₂O). Использование деионизированной воды может привести к ошибкам при проведении теста.

2.2. Микропипетки с изменяемым объемом.

2.3. Чистый стеклянный или пластиковый контейнер для приготовления моющего буфера и образцов.

2.4. Необходимое оборудование для промывки микропланшет (мультистеппер или микропланшетный вошер).

2.5. 37 °С – инкубатор.

2.6. Микропланшетный ридер (фотометр) с фильтрами 450 нм и 620-650 нм.

3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Все компоненты набора должны быть доведены до комнатной температуры до начала процедуры.

Рассчитать необходимое количество стрипов.

3.1. Микропланшет

После каждого взятия стрипов алюминиевый пакет должен плотно закрываться вместе с влагопоглощающей прокладкой. Срок годности и условия хранения указаны в п. 1.

Примечание: микропланшет окрашен в светло-зеленый цвет. В процессе обработки ячейки могут приобретать бурый цвет внутри, что не влияет на результаты теста.

3.2. Моющий буфер

Смешать одну часть моющего буфера (10x) с девятью частями воды для инъекций (например, 50 мл моющего буфера (10x) с 450 мл воды для инъекций). На восемь стрипов необходимо 10 мл разведенного моющего буфера.

Кристаллы моющего буфера (10x) растворяются при нагревании (макс. 37 °С) и/или при взбалтывании при комнатной температуре.

3.3. VZV-IgM-ELA

Восстановить лиофилизированный антиген за 60 мин. до начала применения, используя 3,0 мл буфера для разведения антигена. Осторожно перемешать и следить за тем, чтобы прилипшие к пробке частицы также были растворены.

После восстановления VZV-IgM-ELA приобретет красный цвет и готов к использованию.

Готовый к использованию VZV-IgM-ELA хранят в течение 7 дней при температуре 2 - 8 °С или ≤ 18 С в течение 6 недель (см. п. 1).

Не смешивать специальные для теста реагенты (микропланшет, контроли, VZV-IgM-ELA, буфер для разбавления антигена) с реагентами из других партий. Напротив, буфер для разведения проб, моющий буфер, ТМВ-субстрат и стоп-раствор, могут быть заменены во всех вирусологических наборах medac ELISA.

Реагенты других производителей не должны быть использованы.

Точные и воспроизводимые результаты могут быть получены, только если процедура теста выполнена точно.

4. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

4.1. Для теста пригодны образцы сыворотки.

4.2. Сыворотки не требуют специальной инактивации. Однако они не должны быть контаминированы микроорганизмами или содержать эритроциты.

4.3. Сыворотки разводятся в пропорции 1:100 буфером для разведения проб. Для определения титра сыворотки могут подвергаться дальнейшему разбавлению.

5. А. ПРЕДПИСАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ТЕСТА

5. 1. Упаковку планшет вскрыть по линии вскрытия и взять необходимое количество стрипов (см. п. 3.1.).

Микропланшет готов к использованию и не требует предварительной отмывки.

5. 2. Лунку A1 оставить пустой в качестве бланка (см.п. 6.А.). В соответствующие лунки добавить по 50 мкл отрицательного контроля, положительного контроля и разведенного образца в двух повторах.

После пипетирования образцов (нейтральный pH или исходная жидкость) ячейки приобретают голубой/зеленый цвет. Если цвет не изменился в одной из ячеек, это говорит о том, что образец или контроль не были добавлены в ячейку.

При необходимости стрипы можно держать в течение 30 минут при комнатной температуре до начала проведения теста.

5. 3. Стрипы инкубировать в течение 60 мин (± 5 мин) при температуре 37 °C (± 1 °C) во влажной камере или заклеенными инкубационной оберточной фольгой.

5.4. Приготовить VZV-IgM-ELA (см. п. 3.3.)

5.5. После инкубации промыть стрипы три раза 200 мкл моющего буфера на каждую лунку. Следить за тем, чтобы все лунки при промывке были заполнены. После окончания процесса отмывки вытряхнуть стрипы на фильтровальную бумагу.

Не позволяйте лункам высохнуть! Незамедлительно использовать!

5.6. Добавить VZV-IgM-ELA (красного цвета) во все лунки (кроме A1). **50 мкл VZV-IgM-ELA добавляется в лунки, если процедура теста выполняется вручную.**

Пожалуйста, помните:

при работе на автоматическом приборе (имеется в виду полный автомат) из-за большого испарения в инкубаторе прибора в каждую лунку должно быть пипетировано по 60 мкл VZV-IgM-ELA.

Условия использования тестов на автоматических анализаторах были подтверждены эмпирическим путем. Кроме того, мы предлагаем проверять совместимость тестов с используемым оборудованием.

5.7. Инкубировать в течение 60 мин. (± 5 мин) при температуре 37° C (± 1 °C) во влажной камере или заклеенными в инкубационную оберточную фольгу.

5.8. После инкубации снова промыть микрострипы (см. п. 5.5.).

5.9. Добавить во все лунки (и в A1) 50 мкл ТМВ-субстрата и инкубировать в течение 30 минут (± 2 мин) при температуре 37 °C (± 1 °C) во влажной камере или заклеенными в инкубационную фольгу в темноте. Положительные пробы приобретут голубой цвет.

5.10. Добавить 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку для остановки реакции (также в лунку A1). У положительных сывороток происходит смена окраски на желтый.

Перед фотометрическим считыванием очистите наружную поверхность дна лунок и проследите, чтобы в лунках отсутствовали воздушные пузырьки. Считывание необходимо производить в течение 15 минут после добавления стоп-раствора.

5. В. ТАБЛИЦА РАБОЧЕЙ ПРОЦЕДУРЫ

	Бланк (A1)	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Проба
Отрицательный контроль	-	50 мкл	-	-
Положительный контроль	-	-	50 мкл	-
Проба	-	-	-	50 мкл
Инкубировать в течение 60 мин. при температуре 37 °С, промыть три раза 200 мкл моющего буфера				
VZV-IgM-ELA	-	50/60 мкл *)	50/60 мкл *)	50/60 мкл *)
Инкубировать в течение 60 мин. при температуре 37 °С, промыть три раза 200 мкл моющего буфера				
ТМВ-субстрат	50 мкл	50 мкл	50 мкл	50 мкл
Инкубировать в течение 60 мин. при температуре 37 °С, промыть три раза 200 мкл моющего буфера				
Стоп – раствор	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Фотометрическое считывание при 450 нм (референс 620 – 650 нм)				

*) ручная/автоматическая процедура (см. п. 5.6.)

6. А. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТА (Валидность)

- Чтение оптической плотности осуществляется при 450 нм (референс длины волны 620 – 650 нм).
- Значение ОП бланка (лунка A1) вычитается из всех других значений оптической плотности.
- значение ОП **негативного контроля** должно быть < 0.150
- значение ОП **положительного контроля** должно быть > 0.600
- **Cut-off** = значение ОП отрицательного контроля + 0.140
- **Серая зона** = cut off ± 10%

Повторите процедуру, если результаты не соответствуют спецификации.

6. В. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ/ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Образцы, значения которых лежат ниже предела серой зоны, оцениваются как **Отрицательные**.
- Образцы, значения которых находятся в пределах серой зоны, оцениваются как **Неопределенные**.

Такие образцы должны быть повторно протестированы параллельно со свежими образцами, взятыми 14 дней спустя, для того чтобы определить изменение титра.

- Образцы, значения которых лежат выше предела серой зоны, оцениваются как **Положительные**.
- Результаты теста всегда интерпретируются вместе с клиническими данными пациента, результатами VZV-IgG, VZV-IgA и другими возможными диагностическими параметрами.

При подозрении на первичную VZV инфекцию во время беременности, а также в случае отрицательного результата теста на VZV IgM, необходима дальнейшая диагностика, например методом ПЦР.

- Перекрестная реактивность, вызванная антителами к вирусу герпеса, ANA, и нейтрофильным антителам не исключается в каждом отдельном случае.
- Не исключается влияние очень высокой концентрации липидов.
- Высокая концентрация гемоглобина не влияет на результаты теста.

7. ХАРАКТЕРИСТИКИ

Следующие характеристики были определены в процессе диагностических исследований.

7. А. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Сыворотка крови 150 пациентов была исследована во время диагностической оценки. Результаты были соотнесены с диагностической характеристикой лаборатории профессора доктора Эндерса и его коллег г. Штутгарта. Результаты отображены в таблице:

VZV-IgM- ELA Test PKS medac	Предварительное определение (проф. Эндерс)			
		Отрицательный	Cut-off	Положительный
	Отрицательный	99	0	4
	Cut-off	0	0	1
	Положительный	1*	0	45

*образцы получены от пациентов с подтвержденной острой инфекцией ветряной оспы (VZV).

Чувствительность = 90.0 %

Специфичность = 99.0 %

Соответствие: 96.0 %

7. В. ТОЧНОСТЬ

Образец	Отклонения в наборе				Образец	Отклонения в партии			
	Средн. ОП	СО	КВ (%)	n		Средн. ОП	СО	КВ (%)	n
ОК	0.048	0.003	6.3	22	ОК	0.094	0.017	18.1	11
Слабо ПК	0.556	0.021	3.8	22	Слабо ПК	0.621	0.045	7.2	11
ПК	0.995	0.029	2.9	22	ПК	1.083	0.051	4.7	11
№1	0.081	0.004	4.9	22	№6	0.104	0.014	13.5	11
№2	0.309	0.018	5.8	22	№7	0.370	0.030	8.1	11
№3	0.406	0.019	4.7	22	№8	0.567	0.033	5.8	11
№4	0.767	0.039	5.1	22	№9	0.889	0.058	6.5	11
№5	1.426	0.087	6.1	22	№10	1.542	0.062	4.0	11

ОК = отрицательный контроль, Слабо ПК = слабоположительный контроль (не включен в набор), ПК = положительный контроль

ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- * Не путать флаконы с реактивами и их крышки во избежание перекрестного загрязнения.
- * Флаконы с реактивами после использования необходимо сразу же плотно закрыть, во избежание испарения и микробного заражения.
- * После использования остатки реагентов хранить согласно предписаниям по хранению, чтобы обеспечить указанный срок годности.
- * После использования все компоненты тестового набора должны храниться в своей оригинальной упаковке, во избежание смешивания реактивов из других тестов или партий (см. п. 3).

УКАЗАНИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- * Следует придерживаться предписаний по технике безопасности.
- * Реактивы, произведенные из человеческих биоматериалов, были проверены на HBsAg, HCV и классифицированы как неинфицированные. Однако рекомендуется обращаться с данным материалом как потенциально инфицированным, полученным из биологических образцов животных (см. содержимое упаковки), соблюдая необходимые меры предосторожности.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ

Остатки химических препаратов в целом рассматриваются как опасные отходы. Обезвреживание и удаление отходов этого характера производится в соответствии с национальными и региональными инструкциями. Свяжитесь с местными специалистами или учреждениями по вопросам обезвреживания и удаления опасных отходов, где вы смогли бы получить соответствующие рекомендации.

Дата составления: 01.07.2008

ОБЗОР

de Ory, F. et al. : European seroepidemiology network 2; Standardisation of assays for seroepidemiology of varicella zoster virus. *J. Clin. Virol.* 36, 111-118 (2006)

Gross, G., Doerr, H. W. (Hrsg.): Herpes Zoster. Monogr. Virol. Vol. 26, 13-19, Karger Basel (2006)

Heininger, U., Seward, J.F.: Varicella. *Lancet* 368, 1365-1376 (2006)

Mertens, Th., Haller, O., Klenk, H.-D. (Hrsg.): Diagnostik und Therapie von Viruskrankheiten. 289-298, Urban & Fischer Verlag (2004)

Saubrey, A., Wutzler, P.: Herpes simplex and varicella zoster virus infections during pregnancy: Current concepts of prevention, diagnosis and therapy. Part 2: Varicella-zoster virus infections. *J. Clin. Microbiol.* 44 (9), 3094-3097 (2006)

Wutzler, P., Farber, J., Wagenpfeil, S., Bisanz, H., Tischer, A.: Seroprevalence of varicella-zoster virus in the German population. *Vaccine* 21, 121-124 (2002)