

EBV VCA-IgG-ELISA PKS medac

Антиген меченый фермент с Системой контроля раскапывания для количественного определения IgG антител оболочки Вируса Эпштейн Барра (VCA) в сыворотке.

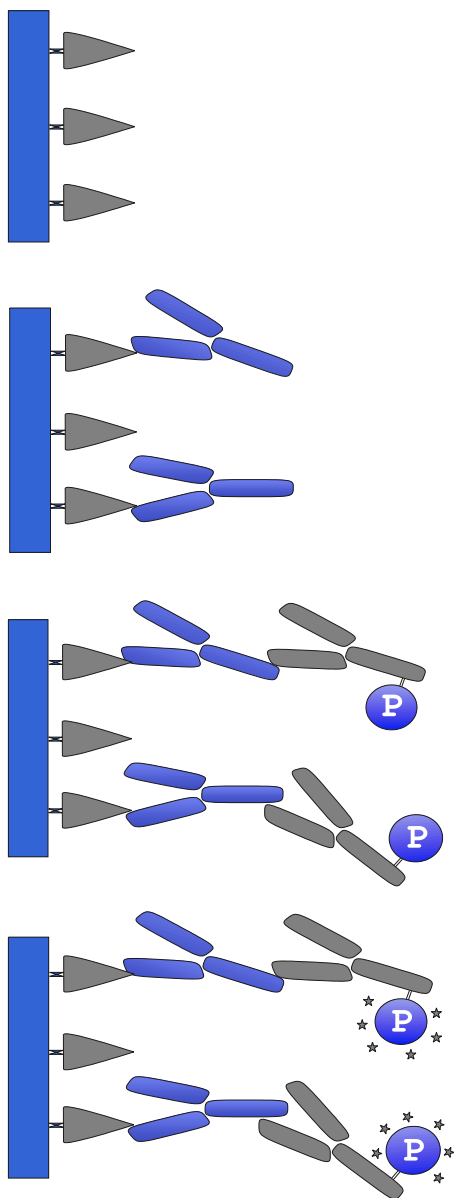
Кат. № : 128/ТМВ

Только для диагностики in vitro.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус Эпштейна Барра относится к группе вирусов герпеса. Он состоит из двуспиральной ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) генома, оболочки вируса, наружного покрова и оболочки. Характерно для этого вируса – это оставаться латентным и жить долго в организме после первичной инфекции. 90% – 95% совершеннолетних личностей заражаются вирусом Эпштейна Бара, распространенного во всем мире. Причина первичной инфекции принимается в отвечающем за иммунитет личности. В раннем детстве проявляется без всяких симптомов. В подростковом возрасте инфекция клинически обнаруживается как мононуклеоз (лимфоидно-клеточная ангина). Личности, страдающие от иммунодепрессией, клинически привязаны, т. к. возобновление вируса может возникнуть. У людей, страдающих от тяжелых подавлений иммунитета наблюдаются поликлональные лимфомы. В 60% из всех хронических злокачественных лимфоматозов ДНК геном присутствует. Эндемично релевантный вирус Эпштейна Бара – сопутствующая опухоль это – лимфома Беркитта и носоглоточная карцинома. Значительные антигенные комплексы для выявления антитела – это специфический вирусный нуклеарный антиген, оболочка вируса антигена и ранние антигены. Выявление антитела, отвечающего за иммунитет личности для распознавания первичной инфекции по отношению к предыдущим инфекциям или серонегативность – очаг болезни вируса Эпштейна Бара. Раздел иммунологии, изучающий механизмы серологических реакций вируса Эпштейна Бара может быть необходимостью как дополняющая симптоматическая лимфаденопатия и неясная неврологическая болезнь. В среде с характерной серологией вируса Эпштейна Бара установление нуклеарного антигена №1 является первым шагом. Выраженный результат усиливает предыдущая инфекция. В случае с отрицательным нуклеарным антигеном №1, выявление оболочки вируса антигена и есть существенность разграничения состояния инфекции. Нуклеарный антиген этого вируса диагностируется методом твердофазного иммуноферментного анализа, который направляет антитела против нуклеарного антигена №1. Путем тестирования это выявляется быстро и легко. Используя калибровочную кривую можно определить количество антител, что позволяет достоверно отслеживать.

Принцип теста



СОДЕРЖИМОЕ УПАКОВКИ

Кат №: 498/ТМВ

1.

МТР

Микропланшета: 12 стрипов по 8 лунок (с рамкой и влагопоглощающей прокладкой), U-образной формы, покрыты **EBV VSA gp 125** – вирусным антигеном. Готов к использованию.
2.

КОНТРОЛЬ	-
-----------------	----------

Отрицательный контроль: 1 флакон – 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, окрашен в голубой цвет, содержит фенол, Проклин 300 и гентамицина сульфат.
3.

КОНТРОЛЬ	+
-----------------	----------

Положительный контроль: 1 флакона – 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, окрашен в голубой цвет, содержит фенол, Проклин 300 и гентамицина сульфат.
4.

КАЛИБРАТОР	
-------------------	--

Калибратор: 1 флакон – 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, окрашен в синий цвет, содержит VCS, фенол, ПроКлин™ 300 и гентамицина сульфат.
5.

МОЩЬ БУФЕР

Концентрат моющего буфера: 1 флакон 100 мл, PBS/Твин(10X), рН 7.2–7.4, содержит Проклин 300.
6.

БУФЕР ДЛЯ РАЗВЕДЕНИЯ ПРОБ

Буфер для разведения проб: 1 флакон 110 мл, рН 7.2–7.4, готов к использованию, окрашен в голубой цвет, содержит Проклин 300.
7.

КОНЬЮГАТ

Конъюгат: 3 флакона по 4,5 мл каждый, козий анти – человеческий IgG, конъюгированный HRP, готов к использованию, окрашенный в зелёный цвет;
8.

ТМВ – СУБСТРАТ

ТМВ-субстрат: 1 флакон 10 мл, готов к использованию.
8.

СТОП – РАСТВОР

Стоп – раствор: 2 флакона по 11 мл каждый, готов к использованию.

1. ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Материал/реагент	Состояние	Хранение	Стабильность
Тест - упаковка	не открытая	2...8 С	до истечения срока годности
Микро планшеты с антигенным покрытием	открытые	закрытые в алюминиевый пакет с осушителем-влагопоглотителем 2...8 С	6 недель
Контроли/калибратор	открытые	2...8 С	6 недель
Моющий буфер	разведенный	2...8 С	6 недель
Буфер для разведения проб	открытый	2...8 С	6 недель
Конъюгат	открытый	2...8 С	6 недель
ТМВ-субстрат	открытый	2...8 С	6 недель
Стоп - раствор	открытый	2...8 С	до истечения срока годности

Не использовать реагенты после истечения срока годности.

2. ДОПОЛНИТЕЛЬНО НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- 2.1. Aqua ad injectabilia (бидистиллированная вода). Использование деионизированной воды может привести к ошибкам при проведении теста;
- 2.2. Микропипетки с изменяемым объемом.
- 2.3. Чистый стеклянный или пластиковый сосуд для приготовления моющего буфера и образцов.
- 2.4. Необходимое оборудование для промывки микропланшет (мультистеппер или микропланшетный вошер).
- 2.5. 37 С - инкубатор.
- 2.6. Микроплащечный ридер (фотометр) с фильтрами 450 нм и 620-650 нм.

3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Во избежание появления конденсата необходимо, чтобы до начала процедуры все компоненты набора были доведены до комнатной температуры.

Расчитать необходимое количество стрипов.

3.1. Микропланшета :

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

3.2. Мощный буфер:

Смешать одну часть концентрата мощного буфера (10X) с девятью частями бидистиллированной воды (например, 50 мл. концентрата мощного буфера (10X) – с 450 мл. бидистиллированной воды). На каждый стрип необходимо 10 мл разведенного мощного буфера.

Кристаллы концентрата мощного буфера (10X) растворяются при нагревании (макс. 37 С).

После растворения конъюгат имеет зелёный цвет и готов к использованию.

Не смешивать реагенты одной партии с реагентами других партий или других производителей. Точные и воспроизводимые результаты получаются, если процедура теста выполняется точно и используются реагенты из данного набора.

4. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

4.1. Вид исследуемого материала: **сыворотка.**

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

4.3. Сыворотки должны быть разведены 1:200 буфером для разведения проб.

5А. ПРЕДПИСАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ТЕСТА

5.1. Упаковку планшета вскрыть по линии вскрытия и взять необходимое количество стрипов (см. 3.1.).

Микроланшет готов к использованию и не требует предварительной отмывки.

5.2. Внести 50 мкл разводящего буфера в лунку A1, используемую в качестве бланка (см. 6.A.). В соответствующие лунки планшета добавить по 50 мкл Отрицательного контроля (в двух повторях), Положительного контроля и разведенной сыворотки пациентов.

5.3. Стрипы инкубировать в течение 60 мин (+5 мин) при температуре 37 С (+1С) во влажной камере или заклеенными инкубационной оберточной фольгой.

5.4. После инкубации промыть стрипы три раза 200 мкл мощного 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!

5.5. Добавить 50 мкл. конъюгата (зелёного цвета) во все лунки (если процедура проводится в ручную, если автоматически, то 60 мкл).

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

5.6. Инкубировать в течение 60 мин. (+5 мин.) при температуре 37 С (+1С) во влажной камере или заклеенными в инкубационную оберточную фольгу

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

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

5.9. Добавить 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку для остановки реакции. У положительных сывороток происходит смена окраски с голубого 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 Б. ТАБЛИЦА РАБОЧЕЙ ПРОЦЕДУРЫ

	Бланк (A1)	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Калибратор	Образцы
Отр. Контроль	--	50 мкл	--	--	--
Пол. Контроль	--	--	50 мкл	--	--
Калибратор	--	--	--	50 мкл	--
Образцы	--	--	--	--	50 мкл
Инкубировать 60 мин. при 37° С, промыть 3 раза по 200 мкл промывающим буфером.					
Конъюгат	--	50/60 мкл*	50/60 мкл*	50/60 мкл*	50/60 мкл*
Инкубировать 60 мин. при 37° С, промыть 3 раза по 200 мкл промывающим буфером.					
ТМБ-субстрат	50 мкл	50 мкл	50 мкл	50 мкл	50 мкл
Инкубировать 30 мин. при 37° С, в темноте.					
Стоп - раствор	100 мкл	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. РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ (ВАЛИДНОСТЬ)

- Считывание значений Оптической Плотности (ОП) производится при длине волны 450 нм (референс 620 – 650 нм).
- Вычитите значение ОП бланка (лунка A1) из всех других значений ОП.
- Лот-специфичные данные
К набору прилагается лист с лот-специфичными данными, содержащий следующую информацию:
 - Лот-специфичная калибровочная кривая
 - Значения а и b кривой
 - Номинальное значение ОП калибратора
 - Нижняя граница значения ОП калибратора
 - Номинальное значение концентрации (УЕ/мл) Положительного контроля.
- Критерии валидности
 - Значение **ОП бланка** должно быть **< 0,150**
 - Единица значения положительного контроля, должна быть внутри номинального значения лот-специфичных данных.
 - Среднее значение ОП калибратора должно быть не менее значения нижней границы, указанной на листе с лот-специфичными данными.

Тест необходимо повторить, если результаты не совпадают со спецификацией.

Коррекция результатов

Полученные значения ОП Положительного контроля и образцов необходимо скорректировать по следующей формуле:

$$ОП_{\text{скорректированное}} = \frac{\text{Номинальное значение ОП калибратора}}{\text{Полученное значение ОП калибратора}} \cdot ОП_{\text{измеренное}}$$

- Расчет результатов

Соответствующие концентрации скорректированных значений ОП в УЕ/мл Могут быть считаны с лот-специфичной калибровочной кривой (см. лист с лот-специфичными данными).

Как альтернатива, концентрации могут быть рассчитаны по следующей формуле:

$$\text{Концентрация [Уе/мл]} = \frac{b}{\left(\frac{a}{ОП_{\text{скорректированное}}} - 1 \right)}$$

Большинство современных ИФА ридеров позволяют ввести формулу в программу, что позволяет полностью автоматизировать процесс.

Исследуемый диапазон составляет от 9 до 200 УЕ/мл. Образцы со значениями ниже данного диапазона интерпретируются как < 9 УЕ/мл, а со значениями выше > 200 УЕ/мл. Данные значения не экстраполируются.

Cut-off = 10 УЕ/мл

Серая зона = cut off ± 10 % (=9 - 11 УЕ/мл)

Внимание!

Надлежащий математический алгоритм определения отрицательных или неопределенных Уе значений могут приобретать следующие значения:

- крайне высокие положительные значения с скорректированной ОП ≥ считаются отрицательными или неопределенными (исключено деление на ноль). Такие результаты, должны быть переисследованы в большем разбавлении или быть интерпретированы > 200 Уе

6Б. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ:

КАЧЕСТВЕННЫЙ

- Пробы, значения ОП которых лежат ниже нижней границы серой зоны, оцениваются как **отрицательные**.
- Пробы, значения ОП которых лежат в пределах серой зоны, оцениваются как **неопределенные**.

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

- Пробы, значения ОП которых лежат выше верхней границы серой зоны, оцениваются как **положительные**.
- Результаты всегда должны быть интерпретированы в соответствии с клиническими показаниями пациентов, а так же с EBV EBNA-1-IgG и с VCA IgM.

EBNA-1-IgG	VCA-IgG	VCA-IgM	Interpretation
-	-	-	серонегативный
+	+/ \pm /-	-	хроническая
-	+/ \pm /-	+	острая

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.

УКАЗАНИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- * Следует придерживаться предписаниям по технике безопасности для лабораторий.

*Реактивы, произведенные из человеческих биоматериалов, были проверены на HBsAg, HCV, HIV 1 и -2 антитела и классифицированы как неинфицированные.

Однако рекомендуется обращаться с данным материалом как потенциально инфицированным, соблюдая необходимые меры предосторожности.