

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Био-Рад Лаборатории»

Бабровник Е.В.



2010 г.

**Инструкция по применению
изделия медицинского назначения**

**«Реагенты и тест-системы для серологической
диагностики инфекционных заболеваний».**

2010

Монофлюо®кит адено 45 ТЕСТОВ

Код 52 210

ОБНАРУЖЕНИЕ АДЕНОВИРУСА
МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ

1. Клиническое значение

РСВ, вирусы гриппа А и В, парагриппа 1, 2 и 3 и аденовирус вызывают серьезные респираторные инфекции у детей, пожилых и ослабленных больных. Установление вирусной или бактериальной природы возбудителя крайне важно для правильной терапии.

Диагностика этих вирусных инфекций основана на изолировании вируса. Серологическая диагностика не дает удовлетворительных результатов, поскольку диагностически значимый титр появляется через 10...15 дней после появления клинических признаков, а у детей редко обнаруживается даже на этих сроках. Референсным методом считается выделение вируса на культуре клеток из назо-фарингеального смыва или бронхо-альвеолярного лаважа. Выделение возможно на 1-6 сутки от начала инфекции.

Флюоресцентный метод позволяет проводить быструю диагностику инфекции без культуры клеток. Для каждого из перечисленных вирусов необходимо выбирать соответствующие моноклональные Антитела. положительная реакция проявляется флюоресцирующими зернами или частицами в цитоплазме инфицированных клеток.

РСВ вызывает более 60 % ОРВИ. Набор Монофлюо® скрин РСВ используется для одношаговой идентификации в исследуемом материале.

Вирусы гриппа А и В, парагриппов 1, 2 и 3, аденовирус в зависимости от времени года и места вызывают до 30 % инфекций. Набор Монофлюо® Скрин Грипп, Парагрипп, Аденовирус (Кат. № 52217) используется для подтверждения или отклонения наличия вируса в пробе. В случае положительного результата необходимо исследовать следующие наборы:

Монофлюо® кит Аденовирус 52210

2. Принцип метода

Метод основан на обнаружении аденовируса в инфицированных клетках с помощью специфичных к нему моноклональных антител, меченых флюоресцеином.

Эти антитела связываются с антигеном, экспрессирующимся в цитоплазме инфицированных клеток, полученных из секрета или экссудата респираторного тракта, а также после изолирования на культуре клеток.

Клетки, содержащие вирус, испускают флюоресценцию в виде зерен или частиц в основном в цитоплазме при изучении образца в флюоресцентный микроскоп.

3. Состав набора

Набор хранить при +2-8 °С до даты, указанной на упаковке. При отсутствии микробной контаминации реагенты сохраняют качество на протяжении всего срока хранения.

Реагенты	Природа реагента	Форма
R1 Моноклональные антитела к аденовирусу	Моноклональные анти-аденовирус антитела мыши, азид натрия	1 × 2,5 мл (флакон-

		капельница)
R2 Отрицательный контроль	Культуральный супернатант	1 × 2,5 мл (флакон-капельница)
R3 Концентрированный конъюгат (10X)	Антитела овцы к IgG мыши, меченые флюоресцеином изотиоцианатом, азид натрия	1 × 1 мл (флакон-капельница)
R4 Стабилизирующая среда	Готова к использованию. Забуреренный глицерин для иммунофлюоресценции, азид натрия	1 × 3 мл (флакон-капельница)

4. Предупреждения

Качество результатов зависит от соблюдения требований GLP.

1. Не использовать просроченные реагенты.
2. Не смешивать реагенты из разных наборов.
3. Перед использованием нагревать реагенты до комнатной температуры.
4. Использовать стеклянную посуду, деминерализованную воду и одноразовые расходные материалы.
5. Для каждого образца использовать отдельную пипетку.
6. Проверять качество воды. Если наблюдаются микроорганизмы в отрицательном контроле, поменять воду.
7. Не допускать высыхания конъюгата на слайде.
8. Использовать одноразовые перчатки.
9. Не пипетировать ртом.
10. Материалы, контактировавшие с образцом, считать инфицированными.
11. Избегать проливания.
12. Следовать требованиям биологической безопасности.
13. Реагенты содержат азид натрия. Азид натрия реагирует с соединениями меди и свинца с образованием взрывоопасных веществ. Для предотвращения накопления азидов промывать сливы большим количеством воды.

5. Забор материала

Вирус присутствует в секрете и клеточном экссудате верхних отделов респираторного тракта. для прямой идентификации методом флюоресценции собирать десквамированные клетки из полости оса и трахео-бронхиального секрета.

Образцы необходимо обрабатывать немедленно.

Если вирус изолировали на культуре клеток, наряду с флюоресценцией может наблюдаться цитопатический эффект.

5.1 Метод отбора

Вирус исследовать в образцах назального или трахео-бронхиального секрета, полученного хлопковым тампоном или аспирацией фосфатным буфером. Для исследования образцы можно транспортировать в лабораторию.

Для изолирования вируса секрет собирать в специальную транспортную среду: солевой раствор или забуференную среду MEM, обогащенную стабилизаторами и антибиотиками (БСА, желатином, сахарозой). например,

MEM, 5 мг/мл БСА, 4,76 мг/мл HEPES, 0,22 мг/мл натрия бикарбоната, 1500 Ед./мл пенициллина, 1000 мкг/мл стрептомицина.

Для изолирования, транспортировать образцы глубоко замороженными. необходимо собирать достаточное количество секрета. Особенно эффективны специальные коммерческие системы забора. Можно проводить аспирацию шприцем 50 мл.

В ряде случаев экссудат отсутствует. В такой ситуации омыwać отекающую слизистую и немедленно аспирировать жидкость.

Обычно получают 0,2...0,5 мкл секрета, который и транспортируется в лабораторию.

5.2 Обработка образца перед исследованием

В лаборатории необходимо провести несколько отмывок образца для получения свободных от слизи клеток.

1. Приготовить фосфатный буфер на стерильной воде.
2. Добавить 5 мл буфера к 0,5..1 мл аспирата. Осторожно встряхнуть.
3. Центрифугировать 10 минут 500 g при 2...8 °C, если возможно. Удалить надосадочную жидкость.
4. К осадку добавить 5 мл буфера, центрифугировать. повторить процедуру 2-3 раза для полного удаления слизи.
5. После последнего центрифугирования добавить 1 мл буфера, гомогенизировать раствор пипеткой.
6. Поместить клетки на слайд.
7. Фиксировать и окрасить.

6. Анализ

6.1 Необходимые, но не поставляемые материалы

1. Дистиллированная или деминерализованная вода
2. Фильтровальная бумага
3. Перчатки
4. Фосфатный буфер (код 74901)
5. Ацетон
6. Пастеровские пипетки
7. Пипетки объемом 1 мл, 10 и 200 мкл.
8. Цилиндры 10 и 25 мл
9. Одноразовые пробирки
10. Пробирки для центрифугирования
11. Слайды для иммунофлюоресценции (2 лунки – код 50569, 6 лунок – 50566)
12. Покровное стекло
13. Флюоресцентный микроскоп

6.2 Восстановление и хранение реагентов

R3: Растворить содержимое ампулы в 9 мл фосфатного буфера. После разведения конъюгат хранить при 2...8°C. Он остается стабильным в течение 3 месяцев.

6.3 Методика

6.3.1 Обработка клеток и фиксация

Нанести 20 мкл обработанного образца (осадок после центрифугирования) в лунку слайда.

Высушить слайды при комнатной температуре.

Фиксировать в ацетоновой бане при -20 °C в течение 5 минут.

Оставить слайды на воздухе.

6.3.2 Обработка антителами

1. Нанести каплю антител (R1) в лунку, убедиться, что жидкостью закрылась вся поверхность.
2. Инкубировать в течение 30 минут при 37 °С во влажном инкубаторе.
3. Приготовить однократный фосфатный буфер на стерильной дистиллированной воде.
4. После истечения срока инкубации аккуратно промыть слайд фосфатным буфером.
5. Промыть дважды по 5 минут. Аккуратно перемешать.
6. Погрузить слайд на несколько секунд в дистиллированную воду.
7. Высушить на воздухе.
8. Закрыть покровным стеклом, используя для смачивания забуференный глицерол (R2). Проверить слайд на отсутствие пузырей воздуха.

7. Интерпретация результатов

Исследуйте каждый слайд при увеличении 100х и 400х.

Положительная реакция: не менее одной характерной клетки с флюоресценцией гранулами или зернами внутри цитоплазмы.

Отрицательная реакция: нет флюоресцирующих клеток. Тщательно изучить все лунки.

Для получения наилучших результатов считывать слайды немедленно. Допускается хранить в темном месте при 2...8 °С в течение 24 ч.

8. Ограничения теста

Диагноз недавно перенесенной инфекции должен устанавливаться только на основании сочетания клинических признаков и серологических результатов.

тест-система для качественного определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы/ опоясывающего герпеса в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа

IVD

СОДЕРЖАНИЕ

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ.....	3
2. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП ТЕСТА	3
3. ПРИНЦИП ТЕСТА.....	3
4. СОДЕРЖАНИЕ НАБОРА И ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ	3
5. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ	4
6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ	4
7. ТИПЫ ОБРАЗЦОВ И ИХ ХРАНЕНИЕ.....	5
8. МЕТОДИКА	5
9. СХЕМА ТЕСТА ВПГ IgG	6
10. ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА	6
11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	6
12. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА.....	6
13. АНАЛИТИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ.....	6
14. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ	6
15. ТОЧНОСТЬ	6
16. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА.....	7

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Тест-система для качественного определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы/ опоясывающего герпеса в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа.

2. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП ТЕСТА

Ветряная оспа и опоясывающий герпес – это два клинических проявления инфекции вирусом Варицелла-Зостер (ВЗВ).

Ветряная или куриная оспа высоко контагиозное заболевание, которое в основном возникает при первичном инфицировании ВЗВ у нормально реагирующих детей. Инфекция, вызванная ВЗВ, во время беременности может вызывать нарушения или гибель плода. При инфицировании на поздних сроках беременности возможна смерть новорожденного.

Опоясывающий герпес – заболевание, поражающее взрослых и являющееся следствием реактивации вируса, находившегося в латентной фазе в спинальных сенсорных ганглиях с момента первичного инфицирования. Инфекция проявляется болезненными кожными высыпаниями в зоне иннервации соответствующего нерва.

Серологические методы обычно применяются для определения иммунного статуса пациентов из групп риска (в основном иммунодепрессивные пациенты) и в пре- и постнатальной диагностике инфицированных.

3. ПРИНЦИП ТЕСТА

Тест основан на методе ТФИФА (твёрдофазного иммуноферментного анализа).

Очищенный и инактивированный антиген ВЗВ типов фиксирован на твёрдой фазе (8-луночные планшеты). Специфические иммуноглобулины связываются с антигеном в ходе инкубации с разведенной сывороткой человека.

После промывки, удаляющей непрореагировавшие антитела, проходит инкубация с конъюгатом моноклональных антител к IgG человека и пероксидазы хрена. Несвязавшийся конъюгат удаляется и добавляется субстрат для пероксидазы.

В лунке появляется голубое окрашивание пропорционально концентрации специфических антител.

4. СОДЕРЖАНИЕ НАБОРА И ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты для 48 определений.

Перед использованием необходимо дождаться выравнивания температуры реагентов с комнатной температурой.

MT PLATE Микропланшет: 3 × 2 стрипа, с адсорбированным ВЗВ.

Использование: открыть упаковку на стороне, противоположной кодировке (ZG и номер лота), достать рамку и необходимое количество стрипов из фольги. Убрать неиспользованные стрипы обратно в пакет с силикагелем, выдавить воздух и закрыть пакет.

CONJ Конъюгат: 1 × 10 мл

Состав: моноклональные антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена, в фосфатном буфере, содержащем 0,05 % фенола и 0,02 % Бронидокса. Готовы к использованию без дальнейшего разведения.

CONTROL+ Положительный контроль: 1 × 1,6 мл

Состав: Разведенная в 0,01 М фосфатном буфере (с добавлением 1 % БСА, 0,09 % азида натрия) сыворотка человека, содержащая известную концентрацию анти-ВЗВ IgG антител, готовая к употреблению без дальнейшего разведения.

Цвет зависит от титра антител.

CONTROL CUTT OFF Контроль порогового уровня: 1 × 2,0 мл

Состав: Разведенная в 0,01 М фосфатном буфере (с добавлением 1 % БСА, 0,09 % азида натрия) сыворотка человека, содержащая анти-ВЗВ IgG антитела, готовая к употреблению без дальнейшего разведения.

Цвет: цвет контроля пропорционален титру антител.

CONTROL IgG- Отрицательный контроль IgG: (PF93910) 1 × 1,6 мл

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: Разведенная в 0,01 М фосфатном буфере (с добавлением 1 % БСА, 0,09 % азида натрия) сыворотка человека, не содержащая анти-ВЗВ IgG антител, готовая к употреблению без дальнейшего разведения.

Стабильность: Продукт остается стабильным в течение всего срока использования при хранении в закрытом состоянии при температуре 2...8 °С.

WASH BUF 10-кратный промывающий буфер: (PF93603). 1 × 100 мл

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: фосфатный буфер, сконцентрированный в 10 раз; содержит 0,5 % Брайдж.

Подготовка: развести необходимый объем 1:10 дистиллированной водой для получения готового к использованию буфера. При наличии кристаллов перед разведением необходимо их растворить при 37 °С. Раствор для разведения образцов (PF 93611). 1x100 мл. Для разведения образцов сывортки.

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: Белковый раствор в фосфатном буфере с 0,09% азидом натрия, содержащий краситель метил оранжевый.

SUBS TMB: Субстрат (PF93619). 12 мл. Готов к использованию

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: тетраметилбензидин (0,26 мг/мл) и 0,01 % перекись водорода, стабилизированные в 0,05 моль/л цитратном буфере (pH 3,8).

H2SO4 0.3 M: Стоп-раствор (PF93602). 1 x 16 мл

Взаимозаменяемый между лотами

H2SO4 0.3 моль/л, готов к использованию.

Липкая пленка (2)

Полиэтиленовый пакет (1)

Необходимые, но не поставляемые материалы

- Инкубатор на 37°C

- Микропланшетный ридер (длина волны 450 или 450/620 нм и 405 нм, с линейностью до О.П. ≥ 2000)
- Микропланшетный вошер (желательно), работающий с объемами жидкостей в диапазоне 225-375 мкл.
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Лабораторная посуда: цилиндры, пробирки и т.д.
- Микропипетки 10, 100, 1000 мкл
- Одноразовые перчатки
- Часы
- Раствор гипохлорита натрия (5%)
- Контейнер для сбора потенциально инфекционного материала
- Фильтровальная бумага

5. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты хранить при температуре 2...8 °С.

Дата окончания срока годности напечатана на каждом компоненте и маркировке коробки.

После вскрытия или подготовки к использованию стабильность реагентов ограничивается

Микропланшеты: 5 недель при 2...8 °С, в полиэтиленовой упаковке

Контроли: 5 недель при 2...8 °С

Конъюгат: 5 недель при 2...8 °С

Субстрат: по окончании срока годности при 2...8 °С, 1 неделю при 15...30 °С; хранить в темном месте.

Раствор для разведения образцов, до окончания срока годности :при 2...8 °С.

Промывающий буфер: 2 недели при 2...8 °С; 5 дней при 15...30 °С.

Стоп-раствор: до окончания срока годности при 2...8 °С.

6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

ТОЛЬКО ДЛЯ IN VITRO ДИАГНОСТИКИ

Этот набор содержит материалы, полученные от человека. Эти материалы протестированы методами, утвержденными FDA, и не содержат антител к HBS антигену, анти-ВИЧ-1, анти-ВИЧ-2 и анти-НСУ антител. Поскольку ни один тест не способен гарантировать отсутствие инфекционного агента, все материалы, полученные от человека, должны рассматриваться как потенциально инфицированные. Необходимо соблюдать все требования лабораторной практики, предъявляемые к работе с материалом, полученным от человека.

Информация о безопасности

1. Не пипетировать ртом. При работе с образцами и в ходе выполнения анализа использовать одноразовые перчатки и средства защиты глаз. По окончании работы мыть руки.

2. Следующие реагенты содержат низкие концентрации опасных и раздражающих веществ:

a) промывающий буфер содержит детергенты

b) конъюгат содержит фенол

c) субстрат является кислотой

d) контроли содержат 0.09% азиды натрия, реагирующего со свинцом и медью в соединительных элементах и образующего взрывоопасные отложения азидов; их необходимо растворять в воде.

При контакте реагентов с глазами или кожей промыть большим количеством воды.

3. Материалы многократного использования стерилизовать после использования.

Предпочтительно автоклавируют в течение 1 ч при 121 °С. Одноразовые материалы автоклавируют или сжигать.

4. Серная кислота, присутствующая в стоп-растворе и соляная кислота, используемая для очистки стекла, обладают коррозирующими свойствами и должны храниться в соответствующих условиях. При контакте

реагентов с глазами или кожей промыть большим количеством воды.

5. Нейтрализованные кислоты и другие использованные жидкости обработать достаточным количеством гипохлорита натрия в конечной концентрации 1,0 %. Для эффективного обезвреживания инкубировать в течение 30 минут.

6. Разбрызганный потенциально опасный материал незамедлительно удалить фильтровальной бумагой, а загрязнившийся участок – перед продолжением работ обработать 1,0 % гипохлоритом натрия. Гипохлорит натрия не использовать для нейтрализации кислых растворов до удаления избытков раствора фильтровальной бумагой. Материалы, использованные при удалении следов разбрызгивания, включая перчатки, утилизировать как потенциально опасные. Не автоклавируют материалы, содержащие гипохлорит натрия.

Рекомендации по проведению анализа

1. Перед использованием довести реагенты до комнатной температуры (18-30 °C). После использования незамедлительно помещать реагенты в места с соответствующими условиями для хранения. Очень важно работать с реагентами комнатной температуры. Удостовериться, что температура термостата находится в диапазоне 35...39 °C. Открывать упаковку стрипов через 30 минут инкубации при комнатной температуре.

2. Не использовать реагенты после истечения срока годности. Избегать микробной контаминации, снижающей срок годности реагентов и вызывающей ошибки.

3. Не изменять методику анализа, не заменять реагенты набора на реагенты других производителей или других лотов (если отсутствует специальная пометка), не уменьшать рекомендуемое время инкубации.

4. Всю посуду после использования, обрабатывать 2 М соляной кислотой, затем промывать большим количеством дистиллированной или деионизированной воды.

5. Не оставлять реагенты под прямыми солнечными лучами, парами гипохлорита натрия во время хранения или инкубации.

6. Не допускать высыхания лунок в ходе проведения анализа.

7. Предотвращать перекрестную контаминацию реагентов. Необходимо использовать различные пипетки для различных реагентов.

8. Избегать касания краев лунки с конъюгатом. Не вытряхивать содержимое микропланшета.

9. ИФА чувствителен к «краевому эффекту». Минимизировать его влияние путем повышения влажности во время инкубации. Закрывать планшеты крышкой и инкубировать при 37 °C в штативе на водяной бане или в инкубаторе.

Такие планшеты могут инкубироваться в соответствующем анализаторе. Подробную информацию смотреть в руководстве по эксплуатации. CO₂ инкубаторы не используются.

10. Перед считыванием планшета убедиться, что дно планшета чистое, сухое, без пузырьков воздуха.

11. Использование сильно гемолизированных образцов, сыворотки не полностью свернувшейся, или со следами микробной контаминации крови, повышает количество ошибок.

12. Для каждого прибора изучить инструкцию по эксплуатации, предлагаемую производителем, в частности:

- специфические требования по установке,
- принципы работы, инструкции, предупреждения и риска,
- спецификации и характеристики
- сервис и техническое обслуживание.

7. ТИПЫ ОБРАЗЦОВ И ИХ ХРАНЕНИЕ

Образец представляет собой сыворотку крови, полученную из вены обычным путем, в соответствии с требованиями образцовой лабораторной практики.

Сыворотку хранить 4 дня при температуре 2...8 °C или при -20 °C длительный срок, размораживать не более 3 раз. Размороженные образцы осторожно встряхивать перед использованием. Микробная контаминация сильно влияет на качество образца и приводит к ошибочным результатам. Необходимо избегать тестирования сыворотки с сильно выраженной липидемией, желтушностью или контаминацией. При отсутствии возможности получить другой, образец очистить фильтрованием (0,45 мкм) или центрифугированием.

Человеческую плазму исследовать нельзя.

8. МЕТОДИКА

- Приготовить необходимое количество стрипов.

- Приготовить промывочный буфер путем разведения в 10 раз (100 мл + 900 мл H₂O).

Развести образцы 1:101 путем внесения 10 мкл сыворотки в 1 мл растворителя; внести по 100 мкл разведенного образца в каждую лунку (рекомендуется дублировать лунки). Внести неразведенные контроли в стрипы (100 мкл в лунку); минимальное количество: 1 лунка – отрицательный контроль, 2 лунки – пороговый уровень, 1 лунка – положительный контроль.

Оставить одну лунку пустой для внесения в нее 100 мкл субстратной смеси.

Закрывать лунки защитной пленкой и инкубировать 45 минут при 37 °C. После четырехкратной промывки в течение 30 секунд (300 мкл), внести 100 мкл конъюгата в каждую лунку и снова инкубировать в течение 45 минут при 37 °C с заклеенными лентой лунками. Снова промыть планшет 4 раза как описано выше. В

заключение внесите по 100 мкл субстрата в лунку.

Через 15 минут инкубации при комнатной температуре остановить реакцию добавлением 100 мкл стоп-раствора.

Считать оптическую плотность при 450 нм или 450/620 нм в течение 30 минут.

9. СХЕМА ТЕСТА ВПГ IgG

Ручная методика

- Шаг 1 Внести 100 мкл разведенного образца/контроля в лунку стрипа.
Инкубировать 45 минут при 37 °С.
Промыть 4 раза (300 мкл)
- Шаг 2 Внести по 100 мкл конъюгата в каждую лунку
Инкубировать 45 минут при 37 °С.
Промыть 4 раза (замачивание 30 сек, 300 мкл)
- Шаг 3 Внести 100 мкл субстрата в каждую лунку
Инкубировать 15 минут при комнатной температуре
- Шаг 4 Внести 100 мкл стоп-раствора
Считать поглощение при 450 нм в течение 30 минут

10. ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА

Вычесть значение «пустой» лунки ($\leq 0,150$) из всех результатов. Различия в значениях О.П. контрольного реагента порогового уровня, поставленного три раза не должны превышать 25 %. При отклонении значений необходимо провести перерасчет. Значение О.П. положительного контроля должно в 1,5 раз превышать пороговое значение. Отношение значений отрицательного контроля и порогового должно быть менее 0,6.

Пороговая О.П. при 450 нм должно быть $\geq 0,2$ и $\geq 0,16$ при 450/620 нм.

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КАЧЕСТВЕННЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Если значение поглощения образца превышает пороговое, образец считается положительным на наличие анти-B3B IgG.

Рассчитать отношение значений О.П. образца и порогового значения. Образец считается:

Положительным: если отношение $> 1,2$.

Сомнительным: если отношение $> 0,8 - < 1,2$

Отрицательным: если отношение $< 0,8$.

При сомнительном результате, повторите тест. Если образец остается сомнительным, соберите новый образец сыворотки.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

При анализе образца сыворотки, полученного в острую фазу инфекции, когда присутствуют только антитела IgM, результаты могут быть отрицательными.

Уровень анти-B3B IgM необходимо определять в помощью Плателиа® B3B IgM. Альтернативно, для определения нарастания титра IgG антител можно проводить путем одновременного тестирования парных сывороток, полученных с интервалом 8-14 дней.

Результат необходимо интерпретировать в соответствии с клинической картиной и результатами других исследований.

13. АНАЛИТИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Наличие антител IgG к вирусам Эпштейн-Барр, простого герпеса, кори и эпидемического паротита не влияет на специфичность теста.

14. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ

В ходе клинических испытаний, выполненных в клинической лаборатории, были протестированы 47 образца в сравнении с другими коммерческими ИФА-тест-системами. Случаи расхождения были тестированы методом ПИФ в качестве референсного.

Набор Плателиа® B3B IgG имеет 90,63 % чувствительность и 100 % специфичность.

Плателиа® B3B IgG	Референсный	
	+	-
	29	0
+	3	15

15. ТОЧНОСТЬ

Таблица 2: Сходимость результатов, полученных при использовании наборов 3 различных лотов

	О.П.	CV%
Партия 029	0,451	10
Партия 030	0,457	7
Партия 031	0,362	5

Сходимость между постановками и между лотами

	Лот 029	Лот 030	Лот 031	Среднее	CV%
1	0,3	0,4	0,3	0,3	23
2	1,5	1,0	1,7	1,7	10
3	3,0	3,0	3,3	3,1	5

16. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Проблемы могут возникать из-за некачественного теста или неправильных действий.

Проблема	Возможная причина	Меры
Тест не прошел (все отрицательные)	Не внесен один или несколько реагентов или внесены в неверной последовательности	Проверить методику, расположение растворов, повторить тест
	Планшет не прореагировал	Проверить кодировку на пакете, содержащем планшет (смотрите 4 параграф инструкции)
		Проверить наличие влаги в неиспользованных стрипах. (Силикагель должен иметь бледно-желтое окрашивание). Повторить тест.
Тест не прошел (все положительные)	Контаминация субстрата	Использовать новую аликвоту субстрата
	Неправильная промывка	Убедиться в исправности промывателя микропланшет
Низкая точность	Недостаточная промывка	Убедиться в исправности промывателя микропланшет
	Неправильная аспирация	Убедиться в исправности промывателя микропланшет
	Ошибка пипетирования	Проверьте пипетки
	Недостаточное количество реагентов	Избегать высыхания планшета после этапа промывки. Незамедлительно вносить реагенты.
	Наличие пузырьков воздуха	Избегать попадания пузырьков воздуха при пипетировании
	Загрязнение оптического пути	Проверить источник света у прибора и детектор на наличие загрязнителей.
Неправильное развитие окраски	Неправильное время или температура инкубации	Проверить датчик температуры и таймер.
		Точно соблюдать инструкцию.
	Неправильный объем субстрата в планшете	Проверьте пипетку.

тест-система для качественного определения антител класса IgG к вирусу простого герпеса (типы 1+2) в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа

IVD

СОДЕРЖАНИЕ

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	3
2. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП ТЕСТА.....	3
3. ПРИНЦИП ТЕСТА	3
4. СОДЕРЖАНИЕ НАБОРА И ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ.....	3
5. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ	4
6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ.....	4
7. ТИПЫ ОБРАЗЦОВ И ИХ ХРАНЕНИЕ	5
8. МЕТОДИКА	5
9. СХЕМА ТЕСТА ВПГ IgG.....	6
10. ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА	6
11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	6
12. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА.....	6
13. АНАЛИТИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ.....	6
14. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ	6
15. ТОЧНОСТЬ	7
16. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА.....	7

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Тест-система для качественного определения антител класса IgG к вирусу простого герпеса (типы 1+2) в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа.

2. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП ТЕСТА

Вирус простого герпеса относится к семейству герпесвирусов и имеет два типа: тип 1 (ВПГ-1) и тип 2 (ВПГ-2), имеющих антигенные отличия. ВПГ-1 обычно вызывает поражения лицевой области, в то время как ВПГ-2 – половых органов. Однако оба вируса могут вызывать поражения другой анатомической зоны. ВПГ также может вызывать кератит и поражать ЦНС.

ВПГ может поражать практически всю популяцию. Первичная инфекция часто проходит в субклинической форме и редко диагностируется. После латентного периода различной длительности может произойти реактивация и вирусная реактивация в ряде случаев дающая видимые проявления. Интранатальная инфекция вызывает особый интерес и составляет значительную долю клинических случаев и летальных исходов. Поэтому чрезвычайно важно определять иммунный статус беременной с целью обнаружения сероконверсии. Определение специфических IgM важно для диагностики неонатальной инфекции и герпесвирусного энцефалита. Более того, присутствие специфических IgM свидетельствует о нарастании вирусной активности, хотя невозможно четко дифференцировать первичную инфекцию и ее реактивацию.

3. ПРИНЦИП ТЕСТА

Тест основан на методе ТФИФА (твердофазного иммуноферментного анализа) (1-7).

Очищенный и инактивированный антиген вируса простого герпеса 1 и 2 типов фиксирован на твердой фазе (8-луночные планшеты). Специфические иммуноглобулины связываются с антигеном в ходе инкубации с разведенной сывороткой человека.

После промывки, удаляющей непрореагировавшие антитела, проходит инкубация с конъюгатом моноклональных антител к IgG человека и пероксидазы хрена. Несвязавшийся конъюгат удаляется и добавляется субстрат для пероксидазы.

В лунке появляется голубое окрашивание пропорционально концентрации специфических антител.

4. СОДЕРЖАНИЕ НАБОРА И ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты для 96 определений.

Перед использованием необходимо дождаться выравнивания температуры реагентов с комнатной температурой.

MT PLATE Микропланшет: 12 × 8 лунок, с адсорбированным вирусом простого герпеса (окрашен фиолетовым).

Использование: открыть упаковку на стороне, противоположной кодировке (Н и номер лота), достать рамку и необходимое количество стрипов из фольги. Убрать неиспользованные стрипы обратно в пакет с силикагелем, выдавить воздух и закрыть пакет.

CONTROL+ Положительный контроль: 1 × 1,6 мл

Состав: Разведенная в 0,01 М фосфатном буфере (с добавлением 1 % БСА, 0,09 % азида натрия) сыворотка человека, содержащая известную концентрацию анти-ВПГ IgG антител, готовая к употреблению без дальнейшего разведения.

Цвет зависит от титра антител.

CONTROL CUTT OFF Контроль порогового уровня: 1 × 2,0 мл

Состав: Разведенная в 0,01 М фосфатном буфере (с добавлением 1 % БСА, 0,09 % азида натрия) сыворотка человека, содержащая анти-ЦМВ IgM антитела, готовая к употреблению без дальнейшего разведения.

Цвет: цвет контроля пропорционален титру антител.

CONJ Конъюгат: 1 × 16 мл

Состав: моноклональные антитела, меченные пероксидазой хрена, в фосфатном буфере, содержащем 0,05 % фенола и 0,02 % Бронидокса. Готовы к использованию без дальнейшего разведения.

CONTROL IgG- Отрицательный контроль IgG: (PF93910) 1 × 1,6 мл

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: Разведенная в 0,01 М фосфатном буфере (с добавлением 1 % БСА, 0,09 % азида натрия) сыворотка человека, не содержащая анти-ВПГ IgG антител, готовая к употреблению без дальнейшего разведения.

Стабильность: Продукт остается стабильным в течение всего срока использования при хранении в закрытом состоянии при температуре 2...8 °C.

WASH BUF 10x 10-кратный промывающий буфер: (PF93603). 1 x 100 мл

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: фосфатный буфер, сконцентрированный в 10 раз; содержит 0,5 % Брайдж.

Подготовка: развести необходимый объем 1:10 дистиллированной водой для получения готового к использованию буфера. При наличии кристаллов перед разведением необходимо их растворить при 37 °C.

Раствор для разведения образцов(PF 93611). 1x100 мл. Для разведения образцов сыворотки.

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: Белковый раствор в фосфатном буфере с 0,09% азидом натрия, содержащий краситель метил-оранжевый.

SUBS TMB: Субстрат (PF93619). 15 мл. Готов к использованию

Взаимозаменяемый между лотами

Состав: тетраметилбензидин (0,26 мг/мл) и 0,01 % перекись водорода, стабилизированные в 0,05 моль/л цитратном буфере (pH 3,8).

H2SO4 0.3 M: Стоп-раствор (PF93602). 1 x 16 мл

Взаимозаменяемый между лотами

H2SO4 0.3 моль/л, готов к использованию.

Липкая пленка (2)

Полиэтиленовый пакет (1)

Необходимые, но не поставляемые материалы

- Инкубатор на 37°C

- Микропланшетный ридер (длина волны 450 или 450/620 нм и 405 нм, с линейностью до О.П. ≥ 2000)

- Микропланшетный вошер (желательно), работающий с объемами жидкостей в диапазоне 225-375 мкл.

- Дистиллированная или деионизированная вода

- Лабораторная посуда: цилиндры, пробирки и т.д.

- Микропипетки 10, 100, 1000 мкл

- Одноразовые перчатки

- Часы

- Раствор гипохлорита натрия (5%)

- Контейнер для сбора потенциально инфекционного материала

- Фильтровальная бумага

5. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты хранить при температуре 2...8 °C.

Дата окончания срока годности напечатана на каждом компоненте и маркировке коробки.

После вскрытия или подготовки к использованию стабильность реагентов ограничивается

Микропланшеты: 6 недель при 2...8 °C, в полиэтиленовой упаковке

Контроли: 6 недель при 2...8 °C

Конъюгат: 6 недель при 2...8 °C

Субстрат: по окончании срока годности при 2...8 °C, 1 неделю при 15...30 °C; хранить в темном месте.

Раствор для разведения образцов: 2 недели при 2...8 °C.

Промывающий буфер: 2 недели при 2...8 °C; 5 дней при 15...30 °C.

Стоп-раствор: до окончания срока годности при 2...8 °C.

6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

ТОЛЬКО ДЛЯ IN VITRO ДИАГНОСТИКИ

Этот набор содержит материалы, полученные от человека. Эти материалы протестированы методами, утвержденными FDA, и не содержат антител к HBS антигену, анти-ВИЧ-1, анти-ВИЧ-2 и анти-HCV антител. Поскольку ни один тест не способен гарантировать отсутствие инфекционного агента, все материалы, полученные от человека, должны рассматриваться как потенциально инфицированные. Необходимо соблюдать все требования лабораторной практики, предъявляемые к работе с материалом, полученным от человека.

Информация о безопасности

1. Не липеть ртом. При работе с образцами и в ходе выполнения анализа использовать одноразовые перчатки и средства защиты глаз. По окончании работы мыть руки.

2. Следующие реагенты содержат низкие концентрации опасных и раздражающих веществ:

a) промывающий буфер содержит детергенты

b) конъюгат содержит фенол

c) субстрат является кислотой

d) контроли содержат 0.09% азиды натрия, реагирующего со свинцом и медью в соединительных элементах и образующего взрывоопасные отложения азидов; их необходимо растворять в воде.

При контакте реагентов с глазами или кожей промыть большим количеством воды.

3. Материалы многократного использования стерилизовать после использования.

Предпочтительно автоклавировать в течение 1 ч при 121 °С. Одноразовые материалы автоклавировать или сжигать.

4. Серная кислота, присутствующая в стоп-растворе и соляная кислота, используемая для очистки стекла, обладают коррозирующими свойствами и должны храниться в соответствующих условиях. При контакте реагентов с глазами или кожей промыть большим количеством воды.

5. Нейтрализованные кислоты и другие использованные жидкости обработать достаточным количеством гипохлорита натрия в конечной концентрации 1,0 %. Для эффективного обезвреживания инкубировать в течение 30 минут.

6. Разбрызганный потенциально опасный материал незамедлительно удалить фильтровальной бумагой, а загрязненный участок – перед продолжением работ обработать 1,0 % гипохлоритом натрия. Гипохлорит натрия не использовать для нейтрализации кислых растворов до удаления избытков раствора фильтровальной бумагой. Материалы, использованные при удалении следов разбрызгивания, включая перчатки, утилизировать как потенциально опасные. Не автоклавировать материалы, содержащие гипохлорит натрия.

Рекомендации по проведению анализа

1. Перед использованием довести реагенты до комнатной температуры (18-30 °С). После использования незамедлительно помещать реагенты в места с соответствующими условиями для хранения. Очень важно работать с реагентами комнатной температуры. Удостовериться, что температура термостата находится в диапазоне 35...39 °С. Открывать упаковку стрипов через 30 минут инкубации при комнатной температуре.

2. Не использовать реагенты после истечения срока годности. Избегать микробной контаминации, снижающей срок годности реагентов и вызывающей ошибки.

3. Не изменять методику анализа, не заменять реагенты набора на реагенты других производителей или других лотов (если отсутствует специальная пометка), не уменьшать рекомендуемое время инкубации.

4. Всю посуду после использования, обрабатывать 2 М соляной кислотой, затем промывать большим количеством дистиллированной или деионизированной воды.

5. Не оставлять реагенты под прямыми солнечными лучами, парами гипохлорита натрия во время хранения или инкубации.

6. Не допускать высыхания лунок в ходе проведения анализа.

7. Предотвращать перекрестную контаминацию реагентов. Необходимо использовать различные пилетки для различных реагентов.

8. Избегать касания краев лунки с конъюгатом. Не встряхивать содержимое микропланшета.

9. ИФА чувствителен к «краевому эффекту». Минимизировать его влияние путем повышения влажности во время инкубации. Закрывать планшеты крышкой и инкубировать при 37 °С в штативе на водяной бане или в инкубаторе.

Такие планшеты могут инкубироваться в соответствующем анализаторе. Подробную информацию смотреть в руководстве по эксплуатации. CO2 инкубаторы не используются.

10. Перед считыванием планшета убедиться, что дно планшета чистое, сухое, без пузырьков воздуха.

11. Использование сильно гемолизированных образцов, сыворотки не полностью свернувшейся, или со следами микробной контаминации крови, повышает количество ошибок.

12. Для каждого прибора изучить инструкцию по эксплуатации, предлагаемую производителем, в частности:

- специфические требования по установке,
- принципы работы, инструкции, предупреждения и риска,
- спецификации и характеристики
- сервис и техническое обслуживание.

7. ТИПЫ ОБРАЗЦОВ И ИХ ХРАНЕНИЕ

Образец представляет собой сыворотку крови, полученную из вены обычным путем, в соответствии с требованиями образцовой лабораторной практики.

Сыворотку хранить 4 дня при температуре 2...8 °С или при - 20 °С длительный срок, размораживать не более 3 раз. размороженные образцы осторожно встряхивать перед использованием. Микробная контаминация сильно влияет на качество образца и приводит к ошибочным результатам. Необходимо избегать тестирования сыворотки с сильно выраженной липидемией, желтушностью или контаминацией. При отсутствии возможности получить другой, образец очистить фильтрованием (0,45 мкм) или центрифугированием.

Человеческую плазму исследовать нельзя.

8. МЕТОДИКА

Ручная методика

- Приготовить необходимое количество стрипов.
- Приготовить промывочный буфер путем разведения в 10 раз (100 мл + 900 мл H₂O).

Развести образец 1:101 путем внесения 10 мкл сыворотки в 1 мл дилуента. Оставить одну лунку пустой для 100 мкл субстратной смеси. Внести 100 мкл образца в лунку (рекомендуется выполнять тест в дублях). Внести неразведенный контроль (если, возможно в дублях) в стрип (100 мкл в каждую лунку). Минимально необходимое количество: 1 отрицательный контроль, 2 контроля порогового уровня и 1 положительный контроль.

Закрыть лунки защитной пленкой и инкубировать 45 минут при 37 °С. После четырехкратной промывки в течение 30 секунд (300 мкл), внести 100 мкл конъюгата в каждую лунку и снова инкубировать в течение 45 минут при 37 °С с заклеенными лентой лунками. Снова промыть планшет 4 раза как описано выше. В заключение внесите по 100 мкл субстрата в лунку.

Через 15 минут инкубации при комнатной температуре остановить реакцию добавлением 100 мкл стоп-раствора.

Считать оптическую плотность при 450 нм или 450/620 нм в течение 30 минут. Если О.П. выше 2,000, провести повторное считывание при 405 нм.

9. СХЕМА ТЕСТА ВПГ IgG

Ручная методика

- Шаг 1 Внести 100 мкл разведенного образца/контроля в лунку стрипа.
Инкубировать 45 минут при 37 °С.
Промыть 4 раза (30 мкл)
- Шаг 2 Внести по 100 мкл конъюгата в каждую лунку
Инкубировать 45 минут при 37 °С.
Промыть 4 раза (300 мкл)
- Шаг 3 Внести 100 мкл субстрата в каждую лунку
Инкубировать 15 минут при комнатной температуре
- Шаг 4 Внести 100 мкл стоп-раствора
Считать поглощение при 450 нм в течение 30 минут

10. ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА

Выместь значение «пустой» лунки ($\leq 0,150$) из всех результатов. Различия в значениях О.П. контрольного реагента порогового уровня, поставленного три раза не должны превышать 25 %. При отклонении значений необходимо провести перерасчет. Значение О.П. положительного контроля должно в 1,5 раз превышать пороговое значение. Отношение значений отрицательного контроля и порогового должно быть менее 0,6. Пороговая О.П. при 450 нм должно быть $\geq 0,2$ и $\geq 0,16$ при 450/620 нм.

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КАЧЕСТВЕННЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Если значение поглощения образца превышает пороговое, образец считается положительным на наличие анти-ЦМВ IgM.

Рассчитать отношение значений О.П. образца и порогового значения. Образец считается:

Положительным: если отношение $> 1,2$.

Сомнительным: если отношение $> 0,8 - < 1,2$

Отрицательным: если отношение $< 0,8$.

При сомнительном результате, повторите тест. Если образец остается сомнительным, соберите новый образец сыворотки.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

При анализе образца сыворотки взятого в период протекания острой фазы заболевания, когда присутствуют только IgM антитела, полученные результаты могут быть интерпретированы как отрицательные.

Уровень анти-ВПГ IgM необходимо определять в помощью Плателиа® HSV IgM. Альтернативно, для определения нарастания титра IgG антител исследования можно проводить путем одновременного тестирования парных сывороток, полученных с интервалом 8-14 дней.

Результат необходимо интерпретировать в соответствии с клинической картиной и результатами других исследований.

13. АНАЛИТИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Были протестированы 17 образцов, отрицательные по ВПГ, но содержащие антитела IgG к цитомегаловирусу, вирусам Эпштейн-Барр, простого герпеса, кори и эпидемического паротита. Влияния этих антител на специфичность теста не отмечено.

14. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ

В ходе проведения клинических испытаний проанализировали 348 образцов: 61 негативный и 287 позитивных. Образцы проанализировали другими зарегистрированными коммерческими ИФА-наборами: 100 % совпадения между двумя методами по положительным и отрицательным образцам. Набор Плателиа® ВПГ IgG имеет 100 % чувствительность и специфичность.

15. ТОЧНОСТЬ

Таблица 2: Сходимость результатов, полученных при использовании наборов 3 различных лотов

	О.П.	CV%
Партия 084	0,446	6
Партия 085	0,388	10
Партия 086	0,598	6

Таблица 3 Сходимость результатов одного лота в разных тестах

	1 тест	2 тест	3 тест	4 тест	5 тест	Среднее	CV%
HSG 1	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	12
HSG 2	1,9	2,4	2,2	2,0	1,7	2,0	13
HSG 3	3,7	4,9	5,5	4,7	3,4	4,4	20
Полож. контроль	6,3	6,7	7,9	8,0	5,8	6,9	14

16. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Проблемы могут возникать из-за некачественного теста или неправильных действий.

Проблема	Возможная причина	Меры
Тест не прошел (все отрицательные)	Не внесен один или несколько реагентов или внесены в неверной последовательности	Проверить методику, расположение растворов, повторить тест
	Планшет не прореагировал	Проверить кодировку на пакете, содержащем планшет (смотрите 4 параграф инструкции)
		Проверить наличие влаги в неиспользованных стрипах. (Силикагель должен иметь бледно-желтое окрашивание). Повторить тест.
Тест не прошел (все положительные)	Контаминация субстрата	Использовать новую аликвоту субстрата
	Неправильная промывка	Убедиться в исправности промывателя микропланшет
Низкая точность	Недостаточная промывка	Убедиться в исправности промывателя микропланшет
	Неправильная аспирация	Убедиться в исправности промывателя микропланшет
	Ошибка пипетирования	Проверьте пипетки
	Недостаточное количество реагентов	Избегать высыхания планшета после этапа промывки. Незамедлительно вносить реагенты.
	Наличие пузырьков воздуха	Избегать попадания пузырьков воздуха при пипетировании
	Загрязнение оптического пути	Проверить источник света у прибора и детектор на наличие загрязнителей.
Неправильное развитие окраски	Неправильное время или температура инкубации	Проверить датчик температуры и таймер.
		Точно соблюдать инструкцию.
	Неправильный объем субстрата в планшете	Проверьте пипетку.

Экспресс-тест для выявления ротавируса в фекалиях**IVD**

Ротавирусы известны как наиболее часто встречающиеся агенты, встречающиеся в случаях гастроэнтерита А в течении острой фазы заболевания. Вирусные частицы экскретируются в большом количестве с калом (10^8 вирусных частиц на 1 грамм кала)

2. Принцип.

Латексные частицы, активированные иммуноглобулиновой (IgG) фракцией анти-ротавирусной сыворотки кролика, агглютинируются в присутствии вируса в стуле. Латексные частицы, активированные иммуноглобулиновой (IgG) фракцией нормальной сыворотки кролика, применяется как негативный контроль. Каждый образец тестируется на положительный антиротавирус и отрицательный контроль.

3. Реагенты.

R1	Разводящий буфер - 0.015 M Na N ₃	1 флакон X 75 ml
R2	анти-Rotavirus латекс - 0.015 M Na N ₃	1 бутылка-капельница X 1.5 ml (черная)
R3	латекс отрицательного контроля - 0.015 M Na N ₃	1 бутылка-капельница X 1.5 ml (белая)
R4	антиген позитивного контроля - 0.015 M Na N ₃	1 бутылка-капельница X 0.5 ml (желтая)
	6-луночный слайд для смешивания	30 слайдов

Все реагенты готовы к использованию. Срок годности указан на каждой упаковке. Хранить при +2 - 8 C. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ РЕАГЕНТЫ!

4. Необходимые материалы (в набор не входят).

Пастеровские пипетки

50 мкл пипетки

Пробирки

центрифуга

мешалка типа "VORTEX"

фильтр диаметром 0.80 мкм.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ.

Все реагенты содержат азид натрия. Азид натрия может реагировать с медью или свинцом, которые могут содержаться в сливных трубах, что может привести к появлению взрывоопасных азидов металлов. Во время удаления этих реагентов промойте избыточным количеством воды для предотвращения формирования отложений азидов.

5. Процедура.

1) Сбор и приготовление образцов

- Собрать кал в стерильную посуду.
- Развести образец кала 1 к 10 разводящим буфером R1 (0.25 г кала в 2.5 мл R1)
- Перемешивать на вортексе в течение 1 минуты
- Центрифугировать суспензию при 1000 оборотов в минуту в течение 10 минут. Реакцию агглютинации проводить с супернатантом.

ЗАМЕЧАНИЕ: В случае мукозного стула бывает трудно определить истинный супернатант даже после центрифугирования. В этом случае рекомендуется фильтровать мукозную часть супернатанта через фильтр с диаметром пор 0.80 мкм.

2) Реакция агглютинации.

- Полностью гомогенизируйте содержимое флаконов с R2 и R3 (например, используя "VORTEX")
- Поместите по одной капле R2 и R3 в две разные лунки на слайде.
- Добавьте по 50 мкл исследуемого супернатанта в каждую из этих лунок.
- Перемешайте.
- Реакцию агглютинации можно обнаружить после 2 минут перемешивания.

3) Оценка и интерпретация.

	Тестовая лунка супернатант + R2	Контрольная лунка супернатант + R3
Положительная реакция	агглютинация	гомогенная суспензия
Одинаковая реакция. Повторить тест.	агглютинация	агглютинация
Отрицательная реакция	гомогенная суспензия	гомогенная суспензия

6. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.

Периодически проверяйте реагенты с позитивным контролем R4:

- Агглютинация при смешивании капель R4 и R2
- Отсутствие агглютинации при смешивании капель R4 и R3.

7. СПЕЦИФИЧНОСТЬ.

Реагенты данного набора не проявляют никаких перекрёстных реакций с другими бактериями и вирусами, содержащимися в кале.