

# НАБІР ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ IgG ДО МЕНІНГОКОКІВ СЕРОГРУП ACWY

## Meningitis IgG

Кат. №: **MENG.CE**

Дата випуску інструкції: **2019/10**  
Версія: **4**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

**Імуноферментний аналіз (ІФА) для визначення антитіл IgG до менінгококів серогруп ACWY та B в сироватці та плазмі людини**

- тільки для діагностичного використання «in vitro» -

### А. ПРИЗНАЧЕННЯ

Імуноферментний аналіз (ІФА) для визначення антитіл IgG до менінгококів серогруп ACWY і B у плазмі та сироватці людини. Продукт призначений для спостереження за пацієнтами, яким введена вакцина від менінгококу, що містить полісахариди серогруп A, C, Y, W135 і B.

### В. ВСТУП

*Neisseria meningitidis*, також відомий просто як *менінгокок*, є гетеротрофною грамнегативною диплококовою бактерією, найбільш відомою своєю роллю в менінгіті та інших формах менінгококової інфекції. Він вражає тільки людей. Це єдина форма бактеріального менінгіту, яка, як відомо, викликає епідемії.

Бактерії, які можуть поширюватися від людини до людини, зазвичай спочатку викликають колонізацію у верхніх дихальних шляхах, але без симптомів. Звідти вона може проникнути в кровотік до центральної нервової системи і викликати менінгіт або перерости в повномасштабну інфекцію кровотоку (менінгококцемія).

Ідентифіковано дванадцять підтипів або серогруп *N. meningitidis*, п'ять з яких (A, B, C, Y і W135) викликають епідемії. Патогенність, імуногенність та епідемічні можливості відрізняються залежно від серогрупи. Таким чином, визначення серогрупи, відповідальної за спорадичний випадок, є вирішальним для стримування епідемії.

Вакцини проти менінгококів, які зараз схвалені для використання у людей, виготовляються з варіантів очищених капсульних полісахаридів, які є характерними для бактеріальної мембрани. Доступні вакцини для серогруп A, C, Y і W135, а нещодавно і для серогрупи B. Антитіла проти менінгококових капсульних полісахаридів (MCP) є захисними у дорослих і дітей старше 2 років, і антитіла були виявлені через чотири роки після вакцинації.

### С. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Мікропланшети покриті препаратом очищених капсульних полісахаридів, утворених серогрупами A, C, Y, W135 і B.

Під час 1-ї інкубації тверду фазу обробляють розведеними зразками, а антигени проти менінгококу, якщо вони присутні, захоплюються антигенами.

Після вимивання всіх інших компонентів зразка під час 2-ї інкубації зв'язані анти-Мен IgG виявляються шляхом додавання антитіла до hIgG, міченого пероксидазою (HRP).

Фермент, захоплений на твердій фазі, діючи на суміш субстрат/хромоген, генерує оптичний сигнал, який пропорційний кількості антитіл анти-Мен IgG, присутніх у зразку.

Граничне значення дозволяє трансформувати значення оптичної щільності, виявлені в позитивних або негативних результатах через присутність або відсутність анти-Мен IgG.

### Д. КОМПОНЕНТИ

Кожен набір містить достатньо реагентів для проведення 96 тестів.

#### 1. Мікропланшет: MICROPLATE

12 смужок x 8 відривних мікролунок, покритих полісахаридами, отриманими з Менінгококу ACYW+B. Пластини запаковані в пакет з осушувачем. Перед відкриттям дайте мікропланшету нагрітися до кімнатної температури; повторно закрийте невикористані смужки в пакет з осушувачем і зберігайте при 4°C (°C).

#### 2. Негативний контроль: CONTROL -

1x4.0 мл/флакон (ml/vial). Готовий до використання та кодований блідо-жовтим кольором. Містить сироватку людини, негативну для IgG проти менінгококу, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6.0 +/-0.1, 0.1% Твін 20, 0.09% Na-азид і 0.045% ProClin 300 як консерванти.

#### 3. Позитивний контроль: CONTROL +

1x4.0 мл/флакон (ml/vial). Готовий до використання та кодований темно-зеленим кольором. Містить розведену сироватку людини, позитивну на IgG проти менінгококу, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6.0 +/-0.1, 0.1% Твін 20, 0.09% Na-азид і 0.045% ProClin 300 як консерванти.

#### 4. Концентрат буферу для промивання: WASHBUF 20X

1x60 мл/пляшку (ml/bottle) 20-кратного концентрованого розчину. Після розведення промивний розчин містить 10 мМ (mM) фосфатного буферу pH 7.0+/-0.2, 0.05% Твін 20 і 0.045% ProClin 300.

#### 5. Ферментний кон'югат: CONJ

1x16 мл/флакон (ml/vial). Готовий до використання та маркований червоним кольором. Містить кон'юговані з пероксидазою хрому поліклональні антитіла до IgG людини, 5% BSA, 10 мМ (mM) трис-буфер pH 6.8+/-0.1, 0.045% ProClin 300 і 0.02% гентаміцин сульфат як консерванти.

#### 6. Хромоген/Субстрат: SUBS TMB

1x16 мл/флакон (ml/vial). Містить 50 мМ (mM) цитратно-фосфатний буферний розчин з pH 3.5-3.8, 4% диметилсульфоксиду, 0.03% тетраметилбензидину (або ТМБ) і 0.02% перекису водню (або H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

**Примітка: Зберігати в захищеному від світла місці, оскільки чутливий до сильного освітлення.**

#### 7. Сірчана кислота: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.3 M

1x15 мл/пляшка (ml/vial). Містить 0.3 M розчину H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

#### 8. Розчинник для зразка: DILSPE

2x60мл/флакон. Готовий до використання та позначений синім кольором. Містить 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6.0 +/-0.1, 0.2% Твін 20, 0.09% Na-азид і 0.045% ProClin 300 як консерванти. Використовується для розведення зразка.

#### 9. Ущільнювальна фольга для планшету 2 шт.

#### 10. Вкладиш інструкції 1 шт.

### Е. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ

- Калібровані мікропіпетки (1000, 100 та 10 мкл (µl) та одноразові пластикові наконечники.
- Вода класу EIA (подвійної дистиляції або деіонізації, оброблена деревиним вугіллям, для видалення окислювальних хімікатів, що використовуються як дезінфікуючі засоби).
- Таймер з діапазоном 60 хвилин або вище.
- Абсорбуючі паперові серветки.
- Калібрований мікропланшетний термостатичний інкубатор ІФА (сухий або вологий), здатний забезпечити температуру +37 °C (°C) (допуск +/-0.5°C (°C)).
- Калібрований мікропланшетний зчитувач ІФА з фільтрами 450 нм (nm) (зчитування) та з 620-630 нм (nm) (бланкування).
- Калібрований мікропланшетний вошер ІФА.
- Вортекс або подібні змішувальні інструменти.

### Ф. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Набором повинен користуватися лише кваліфікований та належним чином підготовлений технічний персонал під наглядом лікаря, відповідального за лабораторію.
- Весь персонал, який бере участь у проведенні аналізу, повинен носити захисний лабораторний одяг, рукавички без тальку та окуляри. Слід уникати використання будь-яких гострих (голки) або ріжучих (лез) пристроїв. Весь залучений персонал повинен бути навчений процедурам біобезпеки, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, а також повідомляється в публікації Національного інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
- Весь персонал, який займається обробкою зразків, повинен бути вакцинований проти ВГВ та ВГА, для яких вакцини доступні, безпечні та ефективні.

- Лабораторне середовище слід контролювати таким чином, щоб уникнути забруднень, таких як пил або мікроорганізми, що утворюються в повітрі, при відкритті флаконів з наборів та мікропланшетів та при проведенні тесту. Не надавайте Хромоген (ТМБ) дії сильного світла та уникайте вібрації поверхні стенду, де проводиться випробування.
- Після отримання, зберігайте набір при температурі 2...8 °C (°C) у холодильнику з контролем температури або в холодній кімнаті.
- Не обмінюйте компоненти між різними партіями наборів. Рекоменується, щоб компоненти між двома наборами однієї партії не мінялися місцями.
- Переконайтеся, що реагенти прозорі та не містять видимих важких частинок або скупчень. Якщо ні, порекомендуйте керівнику лабораторії розпочати необхідні процедури щодо заміни набору.
- Уникайте перехресного забруднення між зразками сироватки/плазми, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
- Уникайте перехресного забруднення між реагентами, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх між використанням кожного з них. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
- Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на зовнішньому контейнері та внутрішніх етикетках (флаконах). Дослідження, проведені на відкритому наборі, не вказало на будь-яку істотну втрату активності до шести 6 використанням пристрою та до 3 місяців.
- Ставтеся до всіх зразків як до потенційно інфекційних. З усіма зразками сироватки людини слід поводитися на рівні біобезпеки 2, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, відповідно до того, що повідомляється у публікації Інституту охорони здоров'я: «Біобезпека мікробіологічних та біомедичних лабораторій», вид. 1984 р.
- Використовувати одноразовий пластиковий посуд рекомендується для приготування рідких компонентів або для перенесення компонентів на автоматизовані робочі місця, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Відходи, що утворилися під час використання набору, слід утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів хімічних та біологічних речовин. Зокрема, рідкі відходи, що утворюються внаслідок процедури промивання, залишків контролів та зразків, повинні бути оброблені як потенційно інфекційний матеріал та інактивовані перед утилізацією. Запропоновані процедури інактивації - це обробка 10% кінцевою концентрацією побутового відбілювача протягом 16-18 годин або інактивація теплом автоклавом при 121 °C (°C) протягом 20 хв (min).
- Випадкові розливи зразків та під час роботи повинні бути адсорбовані паперовими рушниками, змоченими побутовим відбілювачем, а потім водою. Потім рушники слід утилізувати у належні контейнери, призначені для лабораторних/лікарняних відходів.
- Сірчана кислота є подразником. У разі розливу промити поверхню великою кількістю води.
- Інші відходи, що утворюються внаслідок використання набору (приклад: наконечники, що використовуються для зразків та контролів, використані мікропланшети), слід обробляти як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів.

## G. ЗРАЗКИ: ПІДГОТОВКА І РЕКОМЕНДАЦІЇ

- Кров забирається асептично шляхом венепункції, а плазма або сироватка готуються із застосуванням стандартних методик підготовки зразків для клінічного лабораторного аналізу. Впливу на приготування зразка з цитратом, ЕДТА та гепарином не спостерігалось.
- Зразки повинні бути чітко ідентифіковані кодами або назвами, щоб уникнути неправильного тлумачення результатів. Коли набір використовується для скринінгу одиниць крові, настійно рекомендується маркування зі штрих-кодом та електронне зчитування.
- Гемолізовані («червоні») та явно гіперліпемічні («молочні») зразки слід утилізувати, оскільки вони можуть дати помилкові результати. Зразки, що містять залишки фібрину або важкі частинки або мікробні нитки та тіла, слід утилізувати, оскільки вони можуть привести до помилкових результатів.
- Сироватку та плазму можна зберігати при + 2 ° ... + 8 °C (°C) у пробірках для первинного збору протягом п'яти днів після збору. Не заморожуйте первинні пробірки для збору. Для більш тривалого

періоду зберігання зразки сироватки та плазми, обережно виїняті з первинної пробірки, можна зберігати замороженими при -20 °C (°C) протягом кількох місяців. Будь-які заморожені зразки не слід заморожувати/розморожувати більше одного разу, оскільки це може утворити частинки, які можуть вплинути на результат тесту.

- Якщо присутні частинки, центрифугуйте при 2.000 об./хв. (rpm) протягом 20 хв. (min) або краще, фільтруйте за допомогою фільтрів 0.2-0.8µ для очищення зразка перед тестуванням.

## H. ПІДГОТОВКА КОМПОНЕНТІВ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

### Мікропланшет:

Перед відкриттям контейнера дайте мікропланшету нагрітись до кімнатної температури (приблизно 1 год). Перевірте, щоб осушувач не став темно-зеленим, що вказує на дефект консервації. У такому випадку зателефонуйте в службу підтримки клієнтів Dia.Pro.

Невикористані смужки потрібно покласти назад в алюмінієвий мішечок з осушувачем, щільно застебнути на блискавку і зберігати при +2°-8°C (°C). При першому відкритті невикористані смужки стабільні, доки індикатор вологості всередині пакета з осушувачем не зміниться з жовтого на зелений.

### Контролі:

Готові до використання. Перед використанням добре перемішайте.

### Концентрат Промивного буфера:

Перед використанням 20X концентрований розчин слід розбавити подвійно дистильованою водою і обережно перемішати обертанням з денця на кришку. Під час приготування уникайте спінювання, оскільки наявність бульбашок може вплинути на ефективність циклів миття.

**Примітка:** після розведення, промивний розчин стабільний протягом 1 тижня при +2..8 °C (°C).

### Ферментний Кон'югат:

Готовий до використання. Добре перемішайте на вортексі перед використанням.

Будьте обережні, щоб не забруднити рідину окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Якщо цей компонент потрібно перенести, використовуйте лише пластикові, можливо стерильні одноразові контейнери.

### Хромоген/Субстрат:

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Будьте обережні, щоб не забруднити рідину окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Не надавайте сильному освітленню, окислювачам та контакту з металевими поверхнями.

Якщо цей компонент доводиться переносити, використовуйте лише пластикову, доступну стерильну одноразову тару.

### Розчинник для зразків:

Готовий до використання компонент. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

### Сірчана кислота:

Готова до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

Легенда:

### Попереджувальні Н-фрази:

**H315** - Викликає подразнення шкіри.

**H319** - Викликає сильне подразнення очей.

### Попереджувальні Р-фрази:

**P280** - Одягати захисні рукавички/захисний одяг/захист обличчя.

**P302+P352** - ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: Змити великою кількістю мила та води.

**P332+P313** - Якщо виникає подразнення шкіри: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P305+P351+P338** - ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промивати водою протягом декількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і це легко зробити. Продовжуйте промивання.

**P337+P313** - Якщо подразнення очей не зникає: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P362+P363** - Зніміть забруднений одяг і виперіть його перед повторним використанням.

## I. ПРИЛАДИ ТА ІНСТРУМЕНТИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В КОМБІНАЦІЇ З НАБОРОМ

1. Мікропіпетки повинні бути відкалібровані, щоб забезпечити правильний об'єм, необхідний для аналізу, а також проводити регулярне знезараження (побутовий спирт, 10% розчин відбілювача, дезінфікуючі засоби медичного призначення) тих частин, які можуть випадково потрапити на зразок. Їх також слід регулярно обслуговувати, щоб показати точність 1% та правдивість +/- 2%. Також слід регулярно проводити дезактивацію розливів або залишків компонентів набору.
2. Інкубатор ІФА слід встановити на +37 °C (°C) (допуск +/- 0.5 °C (°C)) і регулярно перевіряти, щоб підтримувати правильну температуру. Для інкубації підходять як сухі інкубатори, так і водняні ванни, за умови, що прилад підтверджений для інкубації тестів ІФА.
3. **Вошер ІФА** є надзвичайно важливим для загальних показників аналізу. Вошер потрібно заздалегідь ретельно оцінити, перевірити, чи вноситься потрібний об'єм видачі, та регулярно подавати на технічне обслуговування відповідно до інструкцій виробника щодо використання. Зокрема, після закінчення щоденного навантаження вошер слід ретельно очищати від солей деіонізованою водою. Перед використанням вошер слід праймувати розведеним Промивним Розчином. Прилад слід щотижня подавати на дезактивацію згідно з його керівництвом (пропонується дезактивація 0.1 M NaOH). 5 циклів промивання (аспірація + дозування 350 мкл/лунку (µl/well) промивного розчину + 20 секунд замочування = 1 цикл) достатньо для забезпечення аналізу із заявленими характеристиками. Якщо замочування неможливо, додайте ще один цикл промивання. Неправильний цикл промивання або голки, забиті сіллю, є основною причиною помилково позитивних реакцій.
4. Час інкубації має допуск ± 5%.
5. Зчитувач мікропланшетів ІФА повинен бути обладнаний фільтром зчитування 450 нм (nm) та другим фільтром 620-630 нм (nm), обов'язковим для бланкування. Його стандартними характеристиками повинні бути (a) пропускну здатність ≤ 10 нм (nm); (b) діапазон поглинання від 0 до ≥2.0; (c) лінійність до ≥2.0; (d) повторюваність ≥ 1%. Бланкування проводиться на лунці, визначеній у розділі «Процедура аналізу». Оптичну систему зчитувача потрібно регулярно калібрувати, щоб забезпечити правильне вимірювання оптичної щільності. Її слід регулярно підтримувати відповідно до інструкцій виробника.
6. При використанні автоматизованої робочої станції ІФА всі критичні кроки (внесення, інкубація, промивання, зчитування, обробка даних) повинні бути ретельно встановлені, відкалібровані, контрольовані та регулярно обслуговуватися, щоб відповідати значенням, наведеним у розділі О «Внутрішній контроль якості». Протокол аналізу повинен бути встановлений в операційній системі пристрою та перевірений як для вошера, так і для зчитувача. Крім того, частина станції для подачі рідини (дозування та промивання) повинна бути перевірена та правильно встановлена. Особливу увагу потрібно приділити, щоб уникнути перенесення голками, що використовуються для дозування та промивання. Це потрібно вивчити та контролювати, щоб мінімізувати можливість забруднення сусідніх лунок. Рекомендується використовувати автоматизовані робочі станції ІФА, коли кількість досліджуваних зразків перевищує 20-30 одиниць за один запуск.
7. Служба підтримки клієнтів Dia.Pro пропонує підтримку користувачеві в налаштуванні та перевірці приладів, що використовуються в поєднанні з набором, з метою забезпечення відповідності описаним вимогам. Також надається підтримка для встановлення нових інструментів, які будуть використовуватися з набором.

## L. КОНТРОЛЬ ТА МАНІПУЛЯЦІЇ ДО ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Перевірте термін придатності набору, надрукований на зовнішній етикетці коробки з набором. Не використовувати, якщо термін придатності минув.
2. Переконайтеся, що рідкі компоненти не забруднені частинками або скупченнями, видимими неозброєним оком.
3. Переконайтеся, що Хромоген (ТМБ) безбарвний або блідо-блакитний, аспіруючи невеликий його об'єм стерильною прозорою пластиковою піпеткою.
4. Переконайтеся, що при транспортуванні не сталося поломки і не пролито рідини всередині коробки. Переконайтеся, що алюмінієвий мішок, що містить мікропланшет, не пробитий і не пошкоджений.
5. Розведіть увесь вміст 20-кратного концентрованого Розчину для промивання як описано вище.

6. Дайте всім іншим компонентам досягти кімнатної температури (приблизно 1 год), а потім обережно перемішайте на вортексі всі рідкі реагенти.
7. Встановіть ІФА інкубатор на +37°C (°C) і підготуйте вошер ІФА, праймуючи розведеним промивним розчином, згідно з інструкціями виробника. Установіть потрібну кількість циклів промивання, як зазначено в спеціальному розділі.
8. Перевірте, що ІФА зчитувач увімкнено або переконайтеся, що він увімкнений принаймні за 20 хвилин до зчитування.
9. Якщо використовується автоматизована робоча станція, увімкніть, перевірте налаштування та переконайтеся, що ви використовуєте правильний протокол аналізу.
10. Переконайтеся, що мікропіпетки встановлені на необхідний об'єм.
11. Перевірте, чи все інше обладнання доступне та готове до використання.
12. У разі проблем не продовжуйте подальше тестування та повідомте керівнику.

## M. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Аналіз повинен проводитися відповідно до того, що повідомляється нижче, з обережністю, щоб підтримувати однаковий час інкубації для всіх зразків під час тестування.

1. Розведіть зразки 1:101 у відповідних пробірках для розчину (приклад: 1000 мкл (µl) Розчинника для Зразка + 10 мкл (µl) зразка). Не розбавляйте Контролі, оскільки вони готові до використання. Ретельно перемішайте всі рідкі компоненти на вортексі, а потім дійте, як описано нижче.
2. Помістіть необхідну кількість Мікролунок у тримач. Лунку А1 залишіть порожньою для бланкування.
3. Потім додайте 100 мкл (µl) Негативного Контролю у трьох примірниках та Позитивного Контролю у двох примірниках у відповідні лунки згідно схеми на сторінці 6. Потім внесіть 100 мкл (µl) розведених зразків у кожен правильно ідентифіковану лунку.
4. Інкубуйте мікропланшет **протягом 60 хв при +37°C (°C)**.

**Важлива примітка:** смужки повинні бути заклеєні клейкою плівкою, що входить до набору, тільки тоді, коли тест виконується вручну. Не накривайте смужки під час використання автоматичних інструментів ІФА.

5. Промийте мікропланшет автоматичним вошером, як повідомлялося раніше (розділ I.3).
6. Внесіть піпеткою 100 мкл (µl) Ферментного кон'югату в кожен лунку, за винятком А1 бланк-лунок, і накрийте герметичною плівкою. Переконайтеся, що цей компонент червоного кольору був доданий у всі лунки, окрім А1.

**Важлива примітка:** Будьте обережні, щоб не торкнутися внутрішньої поверхні лунки кінчиком піпетки під час видачі ферментного кон'югату. Може відбутися забруднення.

7. Інкубувати мікропланшет **протягом 60 хв при +37°C (°C)**.
8. Помити мікролунок як на етапі 5.
9. Внесіть піпеткою по 100 мкл (µl) суміші хромоген/субстрат у кожен лунку, включно з бланк-луною. Потім інкубуйте мікропланшет **при кімнатній температурі (18-24°C (°C)) протягом 20 хвилин**.

**Важлива примітка:** Не піддавайте сильному прямому освітленню. Може утворитися високий фон.

10. Внесіть піпеткою 100 мкл (µl) сірчаної кислоти у всі лунки, використовуючи ту ж послідовність піпетування, що й на етапі 9. Додавання кислоти перетворює позитивний контроль та позитивні зразки з блакитного на жовтий.
11. Виміряйте інтенсивність кольору розчину в кожній лунці, як описано в розділі I.5, на фільтрі 450 нм (nm) (зчитування) і при 620-630 нм (nm) (віднімання фону), бланкуючи інструмент на А1(обов'язково).

## Загальні зауваження:

1. *Переконайтеся, що на нижній частині мікролунок немає відбитків пальців перед зчитуванням. Це може призвести до хибнопозитивних результатів при зчитуванні.*
2. *Зчитування повинно проводитися відразу після додавання Стоп-розчину, і в будь-якому разі не довше, ніж через 20 хвилин після його додавання. Може статися незначне самоокислення хромогену, що призводить до високого фону.*

## N. СХЕМА АНАЛІЗУ

Метод	Операції
Контролі	100 мкл (µl)
Зразки розведені 1:101	100 мкл (µl)
<b>1-а інкубація</b>	<b>60 хв</b>
Температура	+37 °C (°C)
Етап промивання	5 циклів із 20 хв. замочування АБО 6 циклів без замочування
Ферментний кон'югат	100 мкл (µl)
<b>2-а інкубація</b>	<b>60 хв</b>
Температура	+37 °C (°C)
Крок промивання	5 циклів із 20 хв. замочування АБО 6 циклів без замочування
ТМБ/Н <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	100 мкл (µl)
<b>3-я інкубація</b>	<b>20 хв</b>
Температура	КТ
Сірчана кислота	100 мкл (µl)
Зчитування ОЩ	450 нм (nm) /620-630 нм (nm)

Нижче наведено приклад схеми розподілу:

		Мікропланшет											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	S3											
B	NC	S4											
C	NC	S5											
D	NC	S6											
E	PC	S7											
F	PC	S8											
G	S1	S9											
H	S2	S10											

Легенда: BLK = Бланк NC = Негативний контроль  
PC = Позитивний контроль S = Зразки

## O. ВНУТРІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Перевірка валідації здійснюється на контролях і калібраторі щоразу, коли використовується набір, щоб перевірити, чи результати аналізу відповідають очікуванням і вимогам директиви IVDD 98/79/EC. Переконайтеся, що такі дані збігаються:

Перевірка	Вимоги
Бланк-лунка A1	< 0.100 значення ОЩ450 нм (nm)
Негативний контроль	< 0.150 ОЩ450 нм (nm) після бланкування
Позитивний контроль	> 0.500 ОЩ450 нм після бланкування

Якщо результати тесту відповідають вимогам, зазначеним вище, перейдіть до наступного розділу.

Якщо цього не сталося, не продовжуйте далі, а проведіть наступні перевірки:

Проблема	Перевірка
<b>Бланк-лунка</b> >0.100 ОЩ450 нм (nm)	1. щоб розчин Хромогену/Субстрату не був забруднений під час аналізу
<b>Негативний Контроль</b> >0.150 ОЩ450 нм (nm) після бланкування	1. щоб процедури промивання та налаштування вошера були підтверджені в попередньому кваліфікаційному дослідженні; 2. щоб був використаний відповідний миючий розчин і вошер був праймований ним перед використанням; 3. не було допущено жодної помилки в процедурі аналізу (видача позитивного калібратора замість негативного; 4. щоб жодного забруднення негативного калібратора або його лунок не відбулося через позитивні зразки, розлив або ферментний кон'югат; 5. щоб мікропіпетки не були забруднені позитивними зразками або кон'югатом ферменту 6. щоб голки вошера не заблоковані або частково не забруднені

Позитивний Контроль < 0.500 ОЩ450 нм (nm)	1. щоб процедуру проведено правильно; 2. щоб під час дистрибуції контролю не сталося жодної помилки (наприклад: додали неправильний калібратор); 3. щоб процедура промивання та налаштування вошера були перевірені під час попереднього кваліфікаційного дослідження; 4. щоб не відбулося жодного зовнішнього забруднення позитивного контролю.
--	---

Якщо виникла одна з цих проблем, після перевірки повідомте керівника для подальших дій.

## P. ОБЧИСЛЕННЯ CUT-OFF

Якщо дані дійсні, обчисліть середнє значення ОЩ450 нм (nm) Негативного контролю (NC), а потім застосуйте таку формулу для обчислення значення Cut-off:

$$NC + 0.250 = \text{Cut-Off}$$

**Важлива примітка:** Коли розрахунок результатів виконується автоматично робочою станцією, переконайтеся, що система була завантажена з правильною формулою.

## Q. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Зразки з ОЩ450 нм (nm) нижчою за значення Cut-Off, вважаються неактивними для IgG анти-MEN.

Зразки з ОЩ450 нм вище, ніж значення Cut-Off, вважаються позитивними на IgG анти-MEN.

У випадку кількісного визначення IgG, присутнього у позитивних зразках, необхідного для кращого моніторингу імунологічної відповіді на вакцинацію протягом тривалого часу, розрахуйте для кожного зразка значення Зразок/Cut-Off (або S/Co), що забезпечує індекс вмісту IgG у зразку.

## Важливі примітки:

1. Результати цього IVD не призначені для встановлення будь-якого діагнозу Менінгококової інфекції. Прилад дає лише вказівки на гуморальний імунологічний статус особи, яка проходить процес вакцинації.
2. Інтерпретація результатів повинна проводитися під наглядом керівника лабораторії, щоб зменшити ризик невірних інтерпретацій та помилок у судженнях.
3. Коли результати тестувань передаються з лабораторії в іншу установу, необхідно звернути увагу, щоб уникнути помилкової передачі даних.
4. Діагноз повинен поставити і передати пацієнту лікар з відповідною кваліфікацією.

## R. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Оцінку ефективності набору спочатку проводили на панелях негативних зразків IgG для визначення діапазону негативності, а потім на випадковій популяції дорослих людей для визначення діапазону позитивності.

Нарешті, пристрій досліджували на панелі зразків сироватки, зібраних у людей до та після процесу вакцинації.

**Відтворюваність** досліджували на трьох зразках різної реактивності IgG, досліджених у 16 повторях у трьох окремих запусках; дослідження показало значення KV% в діапазоні 4-20% залежно від зчитувань ОЩ450 нм.

## S. ОБМЕЖЕННЯ

Набір не надає жодної діагностики менінгококової інфекції, а призначений лише для подальшого спостереження за вакцинацією. Заморожені зразки, що містять частинки або агрегати фібрину, можуть давати хибнопозитивні результати.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Howitz M et al.. Surveillance of bacterial meningitis in children under 2 y of age in Denmark, 1997-2006 Scand J Infect Dis. 2008 Aug 14:1-7. PMID: 1872025

2. [No authors listed] Meningococcal B vaccine: new drug. The only vaccine against some serogroup B meningococci. *Prescrire Int.* 2008 Jun;17(95):95-7. PMID: 18623907
3. Trotter CL et al.. Optimising the use of conjugate vaccines to prevent disease caused by Haemophilus influenzae type b, Neisseria meningitidis and Streptococcus pneumoniae. *Vaccine.* 2008 Aug 18;26(35):4434-45. Epub 2008 Jun 17. PMID: 18617296
4. Inés Agudelo C et al.. Serogroup Y meningococcal disease, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2008 Jun;14(6):9901. PMID: 18507927
5. van Alphen L et al.. Meningococcal B vaccine development and evaluation of efficacy. *Hum Vaccin.* 2008 Mar-Apr;4(2):158-61. Epub 2007 Aug 14. PMID: 18388494
6. Pedersen MØ et al.. Neisseria meningitidis. The pathophysiological role of lipopolysaccharides in association with meningococcal disease and septic shock. *Ugeskr Laeger.* 2008 Feb 4;170(6):421-6. Review. Danish. PMID: 18252172.
7. Zughaier SM et al.. Physicochemical characterization and biological activity of lipooligosaccharides and lipid A from Neisseria meningitidis. *J Endotoxin Res.* 2007;13(6):343-57. PMID: 18182462
8. Yeh SH et al.. Update on adolescent immunization: pertussis, meningococcus, HPV, and the future. *Cleve Clin J Med.* 2007 Oct;74(10):714-6, 719-27. Review. PMID: 17941292
9. Pace D et al.. Meningococcal A, C, Y and W-135 polysaccharide-protein conjugate vaccines. *Arch Dis Child.* 2007 Oct;92(10):909-15. Review. PMID: 17895339
10. Cartwright K et al.. Meningococcal disease in Europe: epidemiology, mortality, and prevention with conjugate vaccines. Report of a European advisory board meeting Vienna, Austria, 6-8 October, 2000. PMID: 11534497
11. Riddell A et al.. Vaccines against meningococcal disease: current and future technologies. PMID: 11727513
12. Giardina PC et al.. Effect of antigen coating conditions on enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibody to Neisseria meningitidis serogroup Y and W135 capsular polysaccharide antigens in serum. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Nov;10(6):1136-40. PMID: 14607879
13. Plested JS et al.. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of serum antibodies to the inner core lipopolysaccharide of Neisseria meningitidis group B. *J Immunol Methods.* 2000 Apr 3;237(1-2):73-84. PMID: 10725453
14. Colino J et al.. A quantitative ELISA for antigen-specific IgG subclasses using equivalence dilutions of anti-kappa and anti-subclass specific secondary reagents. Application to the study of the murine immune response against the capsular polysaccharide of Neisseria meningitidis serogroup B. *J Immunol Methods.* 1996 Apr 19;190(2):221-34. PMID: 8621957
15. Sippel JE et al.. Detection of Neisseria meningitidis cell envelope antigen by enzyme-linked immunosorbent assay in patients with meningococcal disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1980;74(5):644-8. PMID: 6782717
16. Ghesling L et al.. Multicenter comparison of Neisseria meningitidis serogroup C anti-capsular polysaccharide antibody levels measured by a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *J of Clinical Microbiology.* 1994 Jun Vol 32 n° 6.
17. Cheryl M et al.. Assignment of additional anti capsular antibody concentration to the Neisseria meningitidis group A, C, Y, and W-135 meningococcal Standard Reference Serum CDC1992. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* 2002-May Vol. 9 n°3.
18. Akinwolere O A O et al.. Two enzyme immunosorbent assays for detecting antibodies against meningococcal capsular polysaccharides A and C. *J Clin Pathol.* 1994; 47:405-410.



#### ВИРОБНИК

##### DIA.PRO

Diagnostic Bioprobes Srl  
Via G. Carducci n° 27  
20099 Sesto San Giovanni  
(Milano) - Italy  
Phone +39 02 27007161  
Fax +39 02 44386771  
e-mail: info@diapro.it

##### ТОВ ДІА.ПРО

Діагностік Біопробс s.r.l.  
вул. Г. Кардуччі, 27  
20099 Сесто Сан Джованні  
Мілан (МІ) Італія  
тел.: +39 02 2700 7161  
факс: +39 02 44386771  
e-mail: info@diapro.it



#### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)



Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю відповідно до правила ISO 13485. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови, що вона відповідає технічним специфікаціям ЄС та критеріям прийнятності.