

HAV Ab

**ELISA test pro stanovení protilátek
proti viru hepatitidy A
v lidském séru a plazmě**

pouze pro diagnózu “*in vitro*”



DIA.PRO
Diagnostic Bioprobes Srl,
Via Columella n° 31, 20128
Milano - Itálie
Telefon +39 02 27007161,
fax +39 02 26007726,
e-mail: diapro@tin.it

REF AVAB.CE
96 testů

HAV Ab

POUŽITÍ

Jednokrokový Enzymatický imunologický test (ELISA) pro stanovení obsahu protilátek vytvořených proti Hepatitidě A v krevní plazmě a krevním séru.

Pouze pro použití „*in vitro*“.

CHARAKTERISTIKA

Hepatitida A (neboli HAV) je neopouzdřený ikosaedrický (dvacetistěnný) RNA virus s lineárním jednovláknovým genomem, kódovaný pouze pro jediný známý serotyp.

HAV má čtyři hlavní strukturní polypeptidy a lokalizuje pouze v cytoplazmě lidských hepatocytů.

Cesta infekce je převážně orální-fekální, a má inkubační dobu 2 až 7 týdnů, během níž může být HAV detekován ve stolici.

Infekce HAV nezpůsobuje žádné chronické hepatitidy a komplikace jsou zřídka.

Tato infekce stimuluje u pacienta silnou imunologickou odpověď nejprve se zvýšenou koncentrací IgM, později pak i koncentrací IgG, jež přetrvává mnoho let po infekci

Stanovení hladin IgG a IgM může pomoci rozpoznat infekční povahu onemocnění, klasifikaci viru, který infekci způsobuje a také fázi infekčního cyklu.

PRINCIP EIA TESTU

Test je založen na principu soutěže, kde protilátky ve vzorku soupeří s anti-HAV specifickými protilátkami označenými HRP o navázání na antigen v pevné fázi.

Na pevnou fázi se nejprve aplikuje zředěný vzorek a HAV protilátky se, pokud jsou přítomny, navážou na antigeny.

Po odmytí všech ostatních komponentů vzorku jsou HAV protilátky (IgG i IgM), navázané během druhé inkubace, detekovány přidáním polyklonálních specifických antilidských IgG a IgM protilátek značených HRP.

Tento enzym navázaný na pevnou fázi, reagující v systému substrátu a chromogenu, generuje optický signál, jehož intenzita je přímo úměrná množství HAV protilátek přítomných ve vzorku. Pomocí koeficientu lze interpretovat hodnoty optické hustoty jako negativní nebo pozitivní výsledky.

OBSAH SOUPRAVY

Každá souprava obsahuje množství reagensů dostačující na provedení 96 testů.

Mikrotitrační destička: MICROPLATE

12 stripů s 8 jamkami potažených pročištěným a deaktivovaným HAV zatavených v ochranném sáčku s vysoušecím prostředkem. Před otevřením sáčku nechejte mikrotitrační destičku dosáhnout pokojové teploty. Nepoužité stripy opět pevně uzavřete do sáčku a skladujte při teplotě 2-8 °C.

Negativní kontrolní vzorek: CONTROL -

1x2 ml. Připraveno k přímému použití. Obsahuje kraví sérové proteiny; 10 mM fosfátový pufr o pH 7.4+/-0.1; 0.02% gentamycin sulfátu a 0.1% Kathon GC jako konzervans. Negativní kontrola je označena bledě žlutou barvou.

Pozitivní kontrolní vzorek: CONTROL +

1x2 ml. Připraveno k přímému použití. Obsahuje anti HAV protilátky kravích sérových proteinů v koncentraci 100 WHO mlU/ml, 10 mM fosfátový pufr o pH 7.4+/-0.1; 0.02% gentamycin sulfátu a 0.1% Kathon GC jako konzervans. Pozitivní kontrola je označena zelenou barvou.

Kalibrátor: CAL ...

Obsahuje anti HAV protilátky kravích sérových proteinů v koncentraci 10 WHO mlU/ml, 10 mM fosfátový pufr o pH 7.4+/-0.1; 0.02% gentamycin sulfátu a 0.1% Kathon GC jako konzervans.

Poznámka: Objem nezbytný k rozpuštění obsahu lahvičky se může lišit u jednotlivých šarží. Prosím použijte objem uvedený na etiketě.

Koncentrát promývacího pufru: WASHBUF 20X

1x60 ml. 20ti násobný koncentrát, který se před použitím ředí destilovanou vodou. Složení: 10 mM fosfátový pufr o pH 7.0+/-0.2; 0.05% Tween 20 a 0.05% Kathon GC.

Enzymatický konjugát: CONJ

1x16 ml. Připraveno k přímému použití. Obsahuje s peroxidázou konjugované protilátky specifické pro HAV, 10 mM Tris pufr o pH 6.8+/-0.1, 2% BSA, 0.02% gentamycin sulfátu a 0.1% Kathon GC.

Konjugát je označen červenou barvou.

Chromogen: SUBS TMB

1x16 ml. Obsahuje 50 mM citrát-fosfátový pufr o pH 3.5-3.8; 4% DMSO; 0.03% tetramethylbenzidin (TMB) a 0.02% peroxidu vodíku (H₂O₂).

Poznámka: Skladujte v temnu.

Roztok na ředění vzorků: DILSPE

1x8 ml. Pufrovaný roztok navržený pro použití v návaznosti na očkování. Obsahuje 0.09% azid sodný a 0.1% Kathon GC.

Roztok je označen tmavě zelenou barvou.

Stop roztok: H₂SO₄ 0.3 M

1x15ml, lahvička obsahuje 0.3 M roztok kyseliny sírové H₂SO₄. *Pozor: Zabraňte kontaktu s očima a pokožkou. Dráždivá látka - Xi R36/38, S2/26/30.*

Krycí fólie na mikrotitrační destičku.

Instrukční manuál

Na vyžádání:

5x2 ml. Připraveno k přímému použití. Barevně označené standardy 0-5-10-50-100 WHO mIU / ml.

(CAL1=0mIU/ml, CAL2=5mIU/ML, CAL3=10mIU/ml, CAL4=50mIU/ml, CAL5=100mIU/ml).

Obsahuje sérové proteiny; 0.3 mg/ml gentamycin sulfátu a 0.1% Kathon GC jako konzervans. Standardy jsou označeny modrou barvou.

POTŘEBNÝ MATERIÁL NEDODÁVANÝ SE SOUPAVOU

1. Mikropipety a jednorázové špičky
2. Voda odpovídající normě EIA.
3. Stopky s rozsahem 60 minut.
4. Savý papír.
5. Termostatický inkubátor mikrotitračních destiček nastavený na +37°C
6. Reader s filtry 450nm a 620-630nm.
7. Promývačka mikrotitračních destiček
8. Vortex

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Se soupravou smí pracovat pouze vyškolený personál pod dohledem doktora medicíny, zodpovědného za chod laboratoře (supervizor).
2. Personál provádějící vyšetření má být oblečen v ochranném laboratorním oděvu a v gumových rukavicích a má mít ochranné brýle. Vyvarujte se použití ostrých předmětů (jehel, žiletek). Personál má být proškolen, jako to doporučuje Centrum pro kontrolu chorob (Centre for Disease Control) / Národní institut zdraví (U.S. Institutes of Health publication) "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1984
3. Personál pracující se vzorkem má být vakcinován proti HAV a HBV, a to vakcinami, které jsou dostupné, bezpečné a efektivní.
4. Laboratorní prostředí má být kontrolováno tak, aby se zabránilo kontaminaci otevřených lahvíček a mikrotitrační destičky během používání soupravy mikroorganismy z prachu nebo vzduchu. Chromogen/Substrát nevystavujte působení světla.
5. Skladujte soupravu při 2-8 °C v chladničce s kontrolovanou teplotou nebo v chladné místnosti.
6. Nemíchejte reagentie pocházející z různých šarží. Doporučujeme raději nepoužívat ani reagentie ze stejné šarže, ale pocházející z různých souprav.
7. Zkontrolujte, zda jsou všechny reagentie čiré a zda neobsahují viditelné částice nebo shluky. Pokud tomu tak není, použijte k vyšetření novou soupravu.
8. Zabraňte křížové kontaminaci mezi vzorky používáním jednorázových špiček a jejich výměnou po pipetování každého vzorku.
9. Zabraňte křížové kontaminaci mezi reagentiemi používáním jednorázových špiček a jejich výměnou po pipetování každé reagentie.
10. Nepoužívejte soupravu po vypršení doby expirace celé soupravy i jednotlivých lahvíček.
11. Všechny vzorky jsou potenciálně infekční. Z tohoto důvodu by práce se všemi vzorky lidského séra a všemi

reagenty soupravy měly být prováděny podle předpisu Biosafety Level 2, jak doporučuje text Centers for Disease Control/U.S. Institutes of Health publication "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1984.

12. Doporučujeme používat jednorázové plastové nádoby pro přípravu tekutých komponent nebo pro přenos do automatizovaného pracoviště, aby se zabránilo křížové kontaminaci.

13. Odpad vzniklý během práce se soupravou musí být likvidován v souladu s národními předpisy a zákony, které se týkají laboratorního odpadu – chemických a biologických substancí. Zejména tekutý odpad vzniklý při promývání, který obsahuje zbytky kontrolních roztoků a vzorků, má být ošetřen jako potenciálně infekční materiál a před zařazením do odpadu má být inaktivován. Doporučený postup inaktivace je ošetření 10% chlornanem sodným nebo tepelná inaktivace v autoklávu při 121°C po dobu 20 minut.

14. Náhodně rozlitý vzorek musí být odsát papírovým ubrouskem napuštěným desinfekčním činidlem a místo poté omyto vodou. Ubrousek musí být poté vyhozen do příslušného kontejneru určeného pro infekční odpad.

15. Kyselina sírová je dráždivá. V případě rozlití omyjte zasažený povrch velkým množstvím vody.

S ostatními odpadními materiály, které vznikly při používání soupravy (např. jednorázové špičky, mikrotitrační destička) se musí zacházet jako s potenciálně infekčním odpadem a měly by být zlikvidovány podle národních směrnic a zákonů, které se týkají laboratorního odpadu.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Souprava je určena k vyšetřování vzorků lidského krevního séra nebo plasmy. Vyhněte se přidávání konzervačních látek do vzorků, které by mohly potlačit enzymatickou reakci konjugátu, což by vedlo k falešně negativním výsledkům. Nebyl pozorován vliv citrátu, EDTA ani heparinu.

Vzorky musí být jasně označeny kódem nebo jménem, aby nedošlo k záměně. Pokud je souprava používána pro screening krevních jednotek, velmi doporučujeme označení čárovým kódem a elektronické čtení kódů.

Nepoužívejte hemolyzované a hyperlipemické vzorky, stejně jako vzorky obsahující rezidua fibrinu nebo jiných velkých částic, protože mohou vést k falešným výsledkům.

Vzorky séra mohou být uloženy při teplotě 2–8°C až po dobu pěti dnů od odběru. V případě delšího skladování je uchovávejte zmrazené při teplotě – 20°C. Vzorky opakovaně nezmrazujte a nerozmrazujte, neboť takto ošetřené vzorky mohou poskytovat falešné výsledky.

Pokud jsou přítomny částice, odstředte vzorek při 2000 RPM po dobu 20 minut nebo jej filtrujte použitím filtru 0.2-0.8 µm až do vyčistění vzorku.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ A UPOZORNĚNÍ

Na základě studie prováděné na otevřených soupravách se doporučuje otevřenou soupravu zpracovat do tří měsíců od jejího otevření.

1. Mikrotitrační destička:

Nechejte mikrotitrační destičku vytemperovat na pokojovou teplotu (asi 1 hodinu) před otevřením sáčku. Zkontrolujte vysoušedlo, jestli není zbarveno tmavě zeleně, což svědčí o defektu při skladování. V takovém případě zkontaktujte zákaznický servis firmy Dia.Pro.

Nepoužité stripy musí být vráceny zpět do hliníkového sáčku spolu s vysoušedlem, pevně uzavřeny a skladovány při 2 až 8°C. Zbytek stripů je stabilní až do doby expirace, pokud indikátor vlhkosti obsažený ve vysoušedle nezmění barvu ze žluté do zelená.

2. Negativní kontrola:

Připravena k přímému použití. Před použitím dobře promíchejte na vortexu.

3. Pozitivní kontrola:

Připravena k přímému použití. Před použitím dobře promíchejte na vortexu.

4. Kalibrátor:

Přidejte objem redestilované vody uvedené na etiketě kalibrátoru, aby se lyofilizovaný prášek zcela rozpustil a poté jemně promíchejte na vortexu. Roztok není stabilní. Skladujte zmrazený kalibrátor při -20 °C.

5. Promývací roztok:

Koncentrát musí být před použitím zředěn 20x redestilovanou vodou. Jednou naředěný promývací roztok je stabilní 1 týden při 2 až 8°C. Při přípravě se vyhněte pění, přítomnost bublin by mohla vést ke špatnému účinku promývání.

6. Enzymatický konjugát:

Připravena k přímému použití. Před použitím dobře promíchejte na vortexu. Buďte opatrní, nekontaminujte tekutinu oxidačními činidly, vzdušným prachem nebo mikroorganismy. Pokud je tato reagencie přenášena, pak ať přenášena pouze v plastových, pokud možno sterilních jednorázových nádobách.

7. Roztok na ředění vzorků:

Připraveno k přímému použití. Před použitím dobře promíchejte na vortexu.

8. Substrát:

Připraven k přímému použití. Před použitím dobře promíchejte na vortexu. Buďte opatrní, nekontaminujte tekutinu oxidačními činidly, vzdušným prachem nebo mikroorganismy. Nevystavujte silnému osvětlení, oxidačním činidlům a kovovým povrchům. Pokud je tato reagencie přenášena, pak ať přenášena pouze v plastových, pokud možno sterilních jednorázových nádobách.

9. Stop roztok:

Připraven k přímému použití. Před použitím opatrně promíchejte na vortexu.

Varování: Dráždivá (Xi R36/38; S2/26/30)

Legenda: R36/38 = dráždí oči a pokožku.

S 2/26/30 = v případě kontaktu s očima, okamžitě vypláchněte velkým množstvím vody a vyhledejte lékaře.

PŘÍSTROJE A ZAŘÍZENÍ POUŽÍVANÉ PŘI ZPRACOVÁNÍ SOUPRAVY

1. Mikropipety musí být kalibrovány pro přesné dávkování roztoků, dále musí dekontaminovatelné alkoholem, 10% NaOH nebo běžnými nemocničními desinfekčními prostředky, po případné kontaminaci infekčním vzorkem. Jejich přesnost musí být 1% s odchylkou max. +/-2%.

2. Inkubátor ELISA destiček musí být nastaven na +37°C (tolerance +/-0.5 °C a musí být ověřena správnost teploty. Může být použit jak suchý tak i vlhký typ inkubátoru určený pro ELISA mikrodestičky.

3. Kvalitní ELISA promývačka je vysoce důležitým prvkem pro přesnost analýzy. Promývačka musí být validována a optimalizována před rutinním použitím v laboratoři. Obvykle 4-5 cyklů (odsátí – dispense 350 µl promývacího roztoku = 1 cyklus) je dostatečné pro promytí. Je doporučen namáčecí čas 20-30 sec. mezi cykly. Pro přesné nastavení počtu cyklů je doporučeno provést analýzu negativních a pozitivních kontrol a několika definovaných vzorků se známou pozitivitou, tak aby výsledky odpovídaly požadavkům popsaným v kapitole o validaci testu. U promývačky je potřeba provádět pravidelnou dekontaminaci a validaci podle požadavků výrobce a předpisů SLP.

4. Tolerance pro inkubační časy je +/-5%.

5. ELISA reader musí být vybaven filtrem 450 nm, ideálně i filtrem 620 nebo 630 nm (BLANK). Musí splňovat následující technické parametry: linearita absorbance musí být vyšší nebo rovna 2 ABS, nastavení vlnových délek menší nebo rovno 10 nm, měřicí rozsah nejméně 0.0 – 2.0 ABS, rozptyl měření pod 1%. Optický systém readeru musí být kalibrován a validován na správnost měření dané vlnové délky, reader musí být udržován dle požadavků výrobce a SLP.

6. Pokud používáte ELISA automat, musíte správně nastavit všechny kritické kroky (dispense, inkubace, promytí, čtení, zpracování dat). Stanice musí být udržována a validována odborným servisem dle požadavků výrobce a SLP. Doporučujeme nastavit protokol a validovat jej na souboru kontrol a vzorků se známou pozitivitou. Je potřeba také předcházet možností křížové kontaminace při opakované dispenciaci jehlou automatu. Používání ELISA automatu je doporučeno, pokud počet vzorků v jednom běhu je nejméně 30.

7. Dia.Pro zákaznický servis nabízí uživatelům Dia.Pro ELISA souprav nastavení protokolů a jejich optimalizaci na širokou škálu ELISA automatů.

PŘÍPRAVA NA ZPRACOVÁNÍ SOUPRAVY

1. Zkontrolujte datum expirace soupravy uvedené na obalu. Nepoužívejte exspirované soupravy.

2. Zkontrolujte, zda nejsou tekuté komponenty soupravy kontaminovány viditelnými částicemi nebo sraženinami. Zkontrolujte, zda Chromogen je bezbarvý nebo světle modrý nasátím malého množství sterilní plastovou pipetou. Zkontrolujte, zda při převozu nedošlo k rozbití nějaké lahvičky a zda není uvnitř krabičky

vylitá žádná tekutina. Zkontrolujte, zda hliníkový obal mikrotitrační destičky není porušený.

3. Naředte si potřebný objem koncentráту promývacího roztoku, jak je popsáno výše.

4. Rozpusťte kalibrátor, jak je popsáno výše a jemně promíchejte na vortexu.

5. Ponechte všechny ostatní komponenty soupravy vytemperovat na pokojovou teplotu (asi jednu hodinu) a pak jemně promixujte na vortexu všechny tekuté reagenty.

6. Nastavte ELISA inkubátor na +37°C a připravte ELISA promývačku naplněním naředěným promývacím roztokem podle pokynů výrobce. Nastavte správný počet promývacích cyklů pro její použití s touto soupravou.

7. Zkontrolujte, zda je zapnutý ELISA reader anebo se ujistěte, že bude zapnut minimálně 20 min před měřením.

8. Pokud používáte automat, zapněte ho zkontrolujte nastavení a ujistěte se, že používáte správný protokol.

9. Zkontrolujte, zda jsou mikropipety nastaveny na požadovaný objem.

10. Zkontrolujte, zda je všechno ostatní vybavení k dispozici a připraveno k použití.

11. V případě nějakých problémů, nepokračujte dále se zpracováním testu a poradte se s Vaším supervisorem.

VLASTNÍ ANALÝZA

Analýza musí být provedena podle níže popsaného postupu. Zaměřte se zejména na dodržení stejné doby inkubace pro všechny vyšetřované vzorky.

1. Požadovaný počet stripů umístěte do rámečku. První jamku A1 ponechejte prázdnou pro slepý test (BLANK). Zbylé testy uchovávejte při teplotě 2 až 8°C s vysoušedlem.

2. Dávkujte 50 µl ředícího roztoku do každé jamky pro vzorky a kontroly s výjimkou jamky A1. Poté dávkujte 100 µl negativní kontroly v triplicátu, 100 µl kalibrátoru v duplikátu a 100 µl pozitivní kontroly do jedné jamky, pak 100µl předředěných vzorků do jednotlivých jamek. Zkontrolujte, že vzorky byly umístěny správně. Inkubujte destičku **60 minut při +37°C**.

Poznámka: stripy zakrývejte přiloženou fólií pouze při manuálním zpracování. Pokud pracujete na analyzátoru stripy, nezakrývejte.

3. Promyjte na automatické promývačce pomocí promývacího roztoku, jak bylo popsáno výše.

4. Přidejte 100 µl konjugátu do každé jamky s výjimkou A1 a přikryjte fólií. Zkontrolujte, že vzorky byly umístěny správně. Inkubujte destičku **60 minut při +37°C**

5. Promyjte destičku stejně jako v bodě 3.

6. Přidejte 100 µl roztoku substrátu do každé jamky, včetně jamky A1. Inkubujte mikrotitrační destičku **při pokojové teplotě (18-24°C) po dobu 20 minut**.

Důležitá poznámka: Nevystavujte destičku silnému světlu. Mohlo by se vyvinout silné pozadí.

7. Pipetujte 100 µl Stop roztoku do každé jamky ve stejném sledu jako v předchozích bodech. Změřte intenzitu zabarvení roztoků jamek ELISA readerem při

450 nm pro odečet pozadí i při 620-630 nm. Jamku A1 použijte jako BLANK.

Důležitá poznámka:

1. Pokud nemáte k dispozici druhý filtr, ujistěte se, že se na spodní straně mikrotitračních jamek nenachází žádné otisky prstů před měřením při 450 nm. Otisky můžou způsobit falešně pozitivní výsledky při čtení.

2. Měření musí být provedeno hned po přidání Stop činidla, nejpozději do 20 min po jeho přidání. Samooxidace chromogenu, může způsobit silné pozadí.

SCHÉMA POSTUPU

kontrolní vzorky a vzorky od pacienta	100 µl
ředící roztok	50 µl
1. inkubace	60 min
teplota	+37°C
promytí	4-5 cyklů
imunokomplex	100 µl
2. inkubace	60 min
teplota	+37°C
promytí	4-5 cyklů
směs TMB a H ₂ O ₂	100 µl
3. inkubace	20 min
teplota	pokojeová
Stop roztok	100 µl
hustota filtru	450 nm a 620 nm

Příklad umístění jednotlivých jamek:

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

Legenda: BLK = Blank NC = Negative Control
CAL = Calibrator PC = Positive Control S = Sample

VNITŘNÍ KONTROLA KVALITY

Kontrola validity soupravy je zajišťována použitím kontrol při každém testu. Souprava je validní, dosáhnou-li kontroly následujících hodnot:

kontrola	hustota 450 nm
jamka pro slepý test (BLANK)	< 0,100 OD 450 nm
negativní kontrola (NC)	> 0,750 OD 450 nm po vynulování Koeficient variace < 30 %
kalibrátor	Co/S ≥ 1
pozitivní kontrola (PC)	< 0,300 OD 450 nm

Pokud výsledky testu dosáhnou výše uvedených hodnot, postupte k dalšímu odstavci. Pokud ne, nepokračujte dále a proveďte následující kontrolu:

Problém	Zkontrolujte
Blank OD > 0.100	1. zda nedošlo ke kontaminaci roztoku substrátu během testu
Negativní kontrola OD < 0,750 po blankování	1. zda promývací postup a nastavení promývačky je v pořádku 2. zda byl použit správný promývací roztok a zda jim byla promývačka naplněna před použitím 3. zda nebyla udělána chyba při pipetování kontrol (pozitivní kontroly místo negativní) 4. zda nedošlo ke kontaminaci NC nebo jamek do nichž byla NC napipetována pozitivním vzorkem nebo ke kontaminaci konjugátu 5. zda nebyly kontaminovány mikropipety pozitivním vzorkem nebo konjugátem 6. zda nejsou jednotlivé jehly promývačky částečně ucpány
Kalibrátor Co/S < 1	1. zda byl dodržen pracovní postup 2. zda nebyla udělána chyba při pipetování kalibrátoru 3. zda promývací postup a nastavení promývačky je v pořádku 4. zda nebyly kontaminovány mikropipety pozitivním vzorkem
Pozitivní kontrola OD > 0.300	1. zda byl dodržen pracovní postup 2. zda nebyla udělána chyba při pipetování pozitivní kontroly (př. napipetování negativní kontroly místo pozitivní) 3. zda promývací postup a nastavení promývačky je v pořádku 4. zda nedošlo k externí kontaminaci pozitivní kontroly.

VÝSLEDKY

Výsledky se vypočítají pomocí cut-off koeficientu (Co), který vypočítáte pomocí následujícího vzorce:

$$\text{Cut-Off} = (\text{NC} + \text{PC}) / 3$$

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky se interpretují jako poměr vzorku OD 450 nm (S) a hodnoty cut-off koeficientu (Co) - Co/S podle následující tabulky:

Co/S	Interpretace
< 0.9	Negativní
0.9 – 1.1	Hraniční
> 1.1	Pozitivní

Negativní výsledek znamená, že pacient nebyl infikován HAV.

U pacienta s dubiozním výsledkem musí být znovu vyšetřeny vzorek krve odebraný za 1-2 týdny. Pozitivní výsledek svědčí o infekci virem HAV a pacient by měl být okamžitě léčen.

PARAMETRY

1. CITLIVOST:

Citlivost testu byla vypočítána pomocí mezinárodního standardu pro protilátky vytvořené proti HAV dodaného organizací WHO.

Podle tohoto standardu test vykazuje citlivost asi 10 WHO IU/L.

Níže uvedená tabulka uvádí hodnoty pro OD 450 nm podle standardní přípravy určené WHO, když byly vzorky rozředěny podle postupu pro přípravu křivky uváděného výrobcem.

WHO IU/L	ABS x 1000
0	1800
6.25	800
12.5	400
25	200
50	125
100	70

2. SPECIFIČNOST:

Přesnost byla stanovena na panelech negativních vzorků odebraných normálním jedincům a dárčům krve, kteří byli pomocí sady schválené organizací FDA klasifikováni jako negativní.

Pro stanovení přesnosti byla použita jak plazma, připravená různými standardními technikami, tak sérum. Aby se zkontrolovaly rušivé vlivy způsobené odběrem a skladováním byly testovány také zmrazené vzorky.

Tento test vykazuje na vzorcích plazmy a séra přesnost > 99 %.

Níže uvedená tabulka ukazuje výsledky klinické zkoušky provedené proti referenční sadě schválené organizací FDA zakoupené na trhu.

Tato klinická zkouška byla provedena externě na skupině dárčů krve, kteří byli předem testováni referenční sadou.

SKUTEČNĚ POZITIVNÍ	215
SKUTEČNĚ NEGATIVNÍ	458
FALEŠNĚ POZITIVNÍ	2
FALEŠNĚ NEHATIVNÍ	0
CELKOVÝ POČET VZORKŮ	675
CITLIVOST %	100,0
SPECIFIČNOST %	99,6
PŘESNOST %	99,7

3. REPRODUKOVATELNOST:

Reprodukovatelnost byla testována na třech vzorcích třemi různými testy

Zjištěné průměrné hodnoty jsou následující:

Negativní: prům. OD 450 nm
2,000 prům. CV 3 %
Slabě pozitivní: prům. OD 450 nm
0,852 prům. CV 10 %
Pozitivní : prům. OD 450 nm
0,050 prům. CV 20 %

Následující tabulka ukazuje příklad studie reprodukovatelnosti provedené na třech šaržích na pozitivním a negativním vzorku.

Studie reprodukovatelnosti:

vzorek	šarže	šarže	šarže	
pozitivní	A	B	C	
1	0,122	0,127	0,178	
2	0,154	0,198	0,157	
3	0,124	0,124	0,124	prům. hodn.
průměr	0,133	0,150	0,153	0,145
STD	0,018	0,042	0,027	0,029
CV %	13,4	28,0	17,8	19,7
negativní				
1	1,150	1,260	1,189	
2	1,127	1,124	1,178	
3	1,112	1,178	1,265	prům. hodn.
průměr	1,130	1,187	1,211	1,176
STD	0,019	0,068	0,047	0,045
CV %	1,7	5,8	3,9	3,8

Níže uvedená tabulka ukazuje data následných hodnot jedince, který se podrobil vakcinaci a byl testován na tvorbu protilátek jako odezvu na antigen HAV.

Doba po ošetření	OD 450 nm
0	1,960
2 měsíce	0,548
4 měsíce	0,352
6 měsíců - přeočkování	
8 měsíců	0,128
10 měsíců	0,107
12 měsíců - přeočkování	
14 měsíců	0,028

LITERATURA

1. Dienstag J.L.. "Hepatitis A Virus : identification, characterization and epidemiologic investigations". Progress in liver disease VI, Popper E., Schaffner F. (eds), pp 343-370, New York, Gruner and Stratton, 1979.
2. Duermeyer W., Van der Veen J., Koster B. "ELISA in Hepatitis A". Lancet. I.: 823-824, 1978
3. Parry J.V., (1981) "Hepatitis A infection: guidelines for the development of satisfactory assays for laboratory diagnosis". The Institute of Medical Laboratory Sciences, 38, 303-311.
4. Lindberg J., Frosner G., Hansson B.G. et al. "Serologic markers of hepatitis A and B in chronic active hepatitis". Scandinavian Journal of Gastroenterology, 13:525-527, 1978.
5. Barbara J.A., Howell D.R., Briggs M., Parry J.V.. "Post transfusion hepatitis A". Lancet (1982), 1-738.
6. Zachoval R., Dienstag J.L., Purcell R.H. "Tests for hepatitis A virus antigen and antibody" in "Hepatitis A". Gerety R.J. (Ed), pp 33-46, Orlando, Academic Press, Inc. 1984

Tento výrobek byl vyroben firmou Dia. Pro s.r.l. pod dohledem zřízeným systémem řízení jakosti a prostředí, který splňuje požadavky norem EN ISO 13485, a který byl certifikován pod registračním číslem 0318

Vyrábí

Dia.Pro. Diagnostic Bioprobes Srl.
via Columella n° 31 – Milano - Italy

Doc.:	INS AVAB.CE	Verze: 1	06/06
-------	-------------	----------	-------

Distributor:

LABOSERV s.r.o.

Hudcova 532/78b, 612 00 Brno

Tel: 541 243 113, fax: 541 243 114

e-mail: laboserv@laboserv.cz