



Vitrotest®

Vitrotest EBV VCA-IgM

Імуноферментна тест-система для якісного визначення антитіл класу IgM до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр

Інструкція з використання

1. Призначення
2. Клінічне значення
3. Принцип аналізу
4. Матеріали та обладнання
5. Застереження та техніка безпеки
6. Зберігання та стабільність
7. Підготовка зразків
8. Підготовка реагентів
9. Процедура аналізу
10. Облік результатів та їх інтерпретація
11. Діагностичні характеристики тесту
12. Обмеження аналізу

Література

Умовні позначення

IVD

Для in vitro діагностики

REF

TK052

«Vitrotest EBV VCA-IgM»

Імуноферментна тест-система для якісного визначення антитіл класу IgM до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр

1. Призначення

Імуноферментна тест-система «Vitrotest EBV VCA-IgM» призначена для якісного визначення антитіл класу IgM до капсидного антигену (VCA) вірусу Епштейна-Барр (ВЕБ) у сироватці чи плазмі крові людини.

Тест-набір може бути застосований як для проведення ІФА з використанням автоматичних піпеток та стандартного обладнання, так і для постановки на автоматичному імуноферментному аналізаторі відкритого типу.

2. Клінічне значення

Епштейна-Барр вірусна інфекція – вірусне інфекційне захворювання людини, що перебігає у субклінічних чи клінічних формах з місцевими чи поліорганными ураженнями. Вірус розмножується у верхніх відділах дихальних шляхів, епітелії травного тракту та асоційованій лімфоїдній тканині. ВЕБ індукує появу популяції реактивних Т-клітин, а також поліклональну активацію В-клітин та їх диференціювання у плазмодити, що продукують низько афінні антитіла до вірусу. ВЕБ є етіологічним агентом таких захворювань, як інфекційний мононуклеоз, лімфома Беркітта, назофарингіальна карцинома.

Вірус Епштейна-Барр зустрічається повсюдно, причому більшість людей інфікується в дитинстві, і до трьох років 30-80% стають носіями ВЕБ. У розвинених країнах 85% дорослого населення є серопозитивним щодо ВЕБ.

Для лабораторної діагностики ВЕБ-інфекції застосовують полімеразну ланцюгову реакцію та серологічні методи досліджень, які включають тест на виявлення гетерофільних антитіл та визначення специфічних антитіл методом імуноферментного аналізу (ІФА). Останній метод дає змогу не тільки встановити факт інфікованості ВЕБ, але й стадію захворювання.

Оптимальна комбінація серологічних тестів для діагностики ВЕБ-інфекції включає виявлення IgG та IgM антитіл, специфічних до вірусного капсидного антигену (анти-VCA-IgG, анти-VCA-IgM) та ядерного антигену (анти-EBNA-IgG). Анти-VCA-IgM антитіла з'являються в організмі при ранній інфекції та зникають протягом 4-12 тижнів. IgG до VCA виявляються дещо пізніше, їх концентрація досягає максимального рівня також на початкових стадіях захворювання, поступово знижуючись, однак, залишається на рівні, що визначається протягом всього життя. Якщо антитіла до вірусного капсидного антигену не виявляються людина є сприйнятливою до ВЕБ-інфекції.

В період гострої інфекції в організмі людини виявляються, також, антитіла до раннього антигену (анти-EA-IgG), які зникають, в переважній більшості, після 3-6 місяців. Однак, у 20-30% здорових людей IgG до EA антигену виявляються протягом всього життя, тож цей діагностичний маркер є менш інформативним.

Анти-EBNA-IgG продукуються організмом через 1-6 місяців після інфікування, їх концентрація зберігається на досить високому рівні тривалий час, а у більшості інфікованих - протягом всього життя. Одночасне виявлення IgG специфічних до EBNA та VCA є показником паст-інфекції.

3. Принцип аналізу

Виявлення антитіл класу IgM до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр в тест-системі «Vitrotest EBV VCA-IgM» ґрунтується на принципі «IgM-захвату» твердофазного імуноферментного аналізу.

Твердою фазою в тест-системі є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованими в лунках моноклональними антитілами, специфічними до імуноглобулінів класу IgM людини. Під час інкубації досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшета відбувається зв'язування імуноглобулінів класу IgM з моноклональними антитілами на твердій фазі. Після відмивання нез'язаних компонентів в лунки додається розчин кон'югату рекомбінантного капсидного антигену ВЕБ з пероксидазою хрому, що зв'язується з анти-VCA специфічними імуноглобулінами класу IgM на твердій фазі. Незв'язані компоненти відмиваються. Візуалізація утворених імунних комплексів відбувається при внесенні в лунки розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). В результаті реакції розчин в лунках, де утворились імунні комплекси, забарвлюється в синій колір. Реакція зупиняється додаванням стоп-реагенту, при цьому синій колір забарвлених лунок змінюється на жовтий. Результат аналізу визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620 нм.

4. Матеріали та обладнання

4.1 Склад набору

ІФА-планшет – 12 стрипів по 8 лунок (з можливістю відокремлення лунок), з іммобілізованими моноклональними антитілами проти IgM людини.

Позитивний контроль – 1 мікропробірка, що містить 0,3 мл розчину імуноглобулінів класу IgM людини зшитих з моноклональними антитілами специфічними до пероксидази хрому (рожевий).

Негативний контроль – 1 мікропробірка, що містить 0,5 мл сироватки крові людини, яка не містить антитіл до вірусу Епштейна-Барр (жовтий).

Розчин для розведення сироваток РРС – 1 флакон, що містить 20 мл буферного розчину з детергентом та консервантами (фіолетовий).

Розчин кон'югату РК – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину кон'югату рекомбінантного VCA антигену з пероксидазою хрому, із стабілізаторами та консервантом (зелений). Готовий до використання.

Розчин для промивання Tr100 (20x) – 1 флакон, що містить 50 мл 20-ти кратного концентрату фосфатного буферу з Тритоном X100 (безбарвний).

Розчин ТМБ – 1 флакон, що містить 12 мл розчину ТМБ і перекису водню з стабілізатором та консервантом (безбарвний).

Стоп-реагент – 1 флакон, що містить 12 мл розчину 0,5 М сірчаної кислоти (безбарвний).

Клейка плівка – 2 аркуші плівки для заклеювання планшетів під час інкубації.

Бланк внесення проб – 1 аркуш для запису схеми внесення зразків.

Інструкція – 1 екземпляр інструкції із застосування.

4.2 Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

Для постановки аналізу необхідні такі додаткові реактиви, матеріали та обладнання:

- деіонізована або дистильована вода;
- фільтрувальний папір;
- мірні циліндри на 10, 200 та 1000 мл;
- одноразові рукавички;
- розчин перекису водню 6%;
- одноразовий або чистий посуд для приготування реактивів (флакони та ванночки);
- таймер;
- одно- та багатоканальні автоматичні піпетки змінного об'єму на 20, 200 та 1000 мкл та наконечники до них;
- термостат на 37°C;
- контейнер для твердих відходів;
- контейнер для рідких відходів;
- ¹автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- ²одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.

^{1,2} *Будь ласка, проконсультуйтеся з нами щодо адаптації Вашого обладнання.*

5. Застереження та техніка безпеки

5.1. Застереження:

– не використовуйте компоненти тест-системи після закінчення строку придатності;
– не використовуйте під час аналізу та не змішуйте компоненти різних серій та компоненти із тест-систем різних нозологій;

– не використовуйте реактиви інших виробників у поєднанні з наборами Vitrotest™;

Примітка: Розчин для промивання Tr100 (20x), Розчин ТМБ та Стоп-реагент допускається використовувати інших серій, які відрізняються від тих, що вкладені до тест-набору. Ці реактиви використовуються в інших тест-системах виробництва ТОВ „ІВК „Рамінтек“. Будь ласка, проконсультуйтеся з нами для отримання детальної інформації.

– після використання реагенту закривайте кожен флакон своєю кришкою;

– чітко дотримуйтесь режиму промивання планшетів, вказаного в пунктах інструкції;

– під час промивання контролюйте наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;

– кожного разу використовуйте новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;

– уникайте потрапляння прямих сонячних променів на реактиви тест-системи;

– розчин ТМБ має бути безбарвним або світло блакитним перед використанням, якщо розчин забарвлений в синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникайте контакту розчину ТМБ з металами або іонами металів. Для роботи використовуйте лише чистий, ретельно виполосканий дистильованою водою посуд;

– для внесення в лунки планшета ТМБ-субстрату використовуйте лише нові наконечники, що не були у використанні;

– ні в якому разі не використовуйте один й той же посуд для розчину кон'югату та хромогену.

5.2. Техніка безпеки:

– всі реактиви набору призначені лише для in vitro діагностики;

– постановку аналізу проводити лише у гумових рукавичках;

– не піпетувати розчини ротом;

– в контролях тест-системи «Vitrotest EBV VCA-IgM» не виявлено HBsAg та антитіл до ВІЛ 1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однак працювати із контролями та досліджуваними сироватками слід, як із потенційно небезпечним інфекційним матеріалом;

– рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6% упродовж 3 годин при кімнатній температурі, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5% протягом 30 хвилин, або іншими дезінфікуючими агентами;

– тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування при 121°C упродовж 1 години;

– не автоклавуйте розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;

– слід уникати розбризкування розчинів ТМБ та стоп-реагенту, а також їх контакту із слизовими оболонками та шкірою;

- у разі розбризкування розчинів, що не містять кислоти, наприклад, сироваток, обробити поверхню 6%-м перекисом водню, а потім витерти насухо фільтрувальним папером.

6. Зберігання та стабільність

Реагенти тест-системи стабільні протягом строку придатності вказаного на етикетці, якщо їх зберігати при 2-8°C.

Транспортувати набір при температурі 2-8°C. Допускається одноразове транспортування при температурі не вище 20°C протягом двох діб.

7. Підготовка зразків

Зразки сироватки чи плазми крові можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 3 діб після забору. Допускається більш тривале зберігання зразків замороженими при температурі від -20 до -70°C. Заморожені зразки перед використанням розморожують та витримують при кімнатній температурі упродовж 30 хвилин. Після розморожування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникайте повторного заморожування-відтаювання досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільняються від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об./хв. протягом 10-15 хвилин. Не використовуйте зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактерійним проростом.

8. Підготовка реагентів

Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи «Vitrotest EBV VCA-IgM» при кімнатній температурі 18-25°C протягом 30 хвилин перед використанням.

8.1. Підготовка ІФА-планшета

Для попередження конденсації води в лунках відкривайте ІФА-планшет лише після витримання 30 хвилин при кімнатній температурі. Розкрийте вакуумну упаковку, відокремте необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакуйте та **зберігайте щільно закритим на замок (zip-lock)** при температурі 2-8°C. Зберігання в такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

8.2. Розведення зразків та контролів

Досліджувані зразки та контролі попередньо розведіть у 20 раз розчином для розведення сироваток. Наприклад, до 190 мкл розчину для розведення додайте 10 мкл сироваток або контролів та старанно перемішайте не допускаючи піноутворення.

Процедуру розведення зразків та контролів проводять безпосередньо перед аналізом.

Допускається розведення сироваток в 20 разів безпосередньо в лунках ІФА-планшета, при цьому для внесення зразків слід використовувати автоматичні дозатори високої точності з робочим об'ємом 2-20 або 0,5-10 мкл. В цьому разі в лунки ІФА-планшета внесіть по 95 мкл розчину для розведення сироваток та 5 мкл досліджуваних зразків або контролів та старанно перемішайте.

8.3. Розчин для промивання

Флакон містить 50 мл 20х концентрату буферу з детергентом. Для приготування розчину для промивання розведіть концентрат 1:20 (тобто, 1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішайте. Наприклад: на 4 мл концентрату – 76 мл дистильованої води, що достатньо для одного стрипу. У випадку наявності кристалів в концентраті розчину для промивання прогрійте флакон при 37°C протягом 15-20 хвилин.

Розведений розчин можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 7 діб.

9. Процедура аналізу

9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу (кількість досліджуваних зразків та чотири лунки для контролів), вставити їх в рамку ІФА-планшета. Лунки з контролями обов'язково включати до кожної постановки аналізу.

9.2. Заповнити бланк внесення проб.

9.3. Приготувати розчин для промивання згідно пункту 8.3.

9.4. Внести по 100 мкл попередньо розведених 1:20 контролів: в лунку А1 – позитивний контроль, в лунку В1, С1 та D1 – негативний контроль. В решту лунок внести по 100 мкл попередньо розведених 1:20 досліджуваних зразків.

9.5. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.

9.6. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:

- видалити вміст лунок в контейнер для рідких відходів;
- наповнити лунки стрипів не менш ніж по 300 мкл розчином для промивання, залишити не менш як на 30 секунд;
- аспірувати розчин з лунок, залишковий об'єм розчину після аспірації на всіх етапах промивання має складати не більше 5 мкл;
- повторити процедуру промивання ще чотири рази;
- після останньої аспірації позбавитись зайвої вологи, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.

9.7. В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату. Стрипи накрити новою клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.

9.8. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в пункті 9.6.

9.9. «Розчин ТМБ» є готовим для використання розчином ТМБ-субстрату з перекисом водню. Розчин ТМБ має бути безбарвним, слід запобігати потраплянню сонячного проміння на розчин. Вносити розчин ТМБ слід чистим новим наконечником: обережно відібрати розчин ТМБ з флакону і, не торкаючись дна та стінок лунок планшета, внести по 100 мкл розчину ТМБ в лунки.

9.10. Інкубувати ІФА-планшет протягом 30 хвилин в темному місці при кімнатній температурі 18-25°C.

9.11. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки стрипів по 100 мкл стоп-реагенту, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні розчину ТМБ.

9.12. Виміряти на рідері оптичну густину в кожній лунці стрипів при довжині хвилі 450/620 нм протягом 5 хвилин після зупинення реакції. Зверніть увагу на чистоту зовнішньої поверхні дна лунок.

Облік результатів аналізу можна проводити в однохвильовому режимі при довжині хвилі 450 нм, в цьому випадку слід залишити лунку для встановлення бланку (в таку лунку вносити лише розчин ТМБ та стоп-реагент).

10. Облік результатів та їх інтерпретація

10.1. Достовірність результатів аналізу.

Розрахувати середнє значення негативного контролю

$$ОГ K_{-середнє} = (ОГ K_{-1} + ОГ K_{-2} + ОГ K_{-3})/3.$$

Результати аналізу вважати достовірними, якщо:

– оптична густина (ОГ) позитивного контролю не нижче 1,5 оптичних одиниць (ОО),

– ОГ в лунках з негативним контролем (ОГ K-) не вище 0,15 ОО,

– ОГ кожного значення негативного контролю відрізняється не більше ніж в два рази від середнього значення негативного контролю, тобто

$$ОГ K_{-середнє} \times 0,5 \leq ОГ K_{-n} \leq ОГ K_{-середнє} \times 2,0.$$

Якщо одне із значень негативного контролю виходить за межі цього інтервалу, його відкидають і розраховують середнє значення K- за рештою значень негативного контролю.

10.2. Облік результатів аналізу.

Рівень граничного значення (Cut off) розрахувати додаючи до середнього значення негативного контролю величину 0,25, тобто

$$Граничне значення = ОГ K_{-середнє} + 0,25.$$

Для кожного досліджуваного зразка розрахувати індекс позитивності (ІП)

$$ІП = \frac{ОГ досліджуваного зразка}{Граничне значення}.$$

10.3. Інтерпретація результатів.

Досліджувані зразки із значенням ІП **вище 1,1** вважати **позитивними (ІП > 1,1)**.

Зразки із значенням ІП **нижче 0,9** вважати **негативними (ІП < 0,9)**.

Зразки із значенням ІП **в межах 0,9-1,1** вважати **невизначеними (0,9 ≤ ІП ≤ 1,1)**. Такі сироватки рекомендується дослідити повторно в двох лунках тест-системи. Якщо результати знову будуть в межах невизначених слід провести тестування сироватки, отриманої через 2-4 тижні. В разі одержання невизначених результатів такі зразки вважати негативними.

Інтерпретація результатів визначення антитіл специфічних до антигенів вірусу Епштейна-Барр

Наявність антитіл до антигенів ВЕБ			Інтерпретація результату
анти-VCA-IgM	анти-VCA-IgG	анти-EBNA-IgG	
Відсутні	Відсутні	Відсутні	Інкубаційний період або відсутність інфекції
Виявляються	Відсутні	Відсутні	Ймовірна рання стадія інфекції*
Відсутні	Виявляються	Відсутні	Ймовірна гостра інфекція*
Виявляються	Виявляються	Відсутні	Гостра інфекція
Виявляються	Виявляються	Виявляються	Хронічна інфекція або реактивація
Відсутні	Виявляються	Виявляються	Паст-інфекція
Відсутні	Відсутні	Виявляються	Ймовірна паст-інфекція*

* рекомендується повторне обстеження пацієнта через 2-3 тижні

11. Діагностичні характеристики тесту

11.1. Специфічність та чутливість

Специфічність та чутливість тест-системи «Vitrotest EBV VCA-IgM» оцінювали за допомогою комерційної панелі сироваток виробництва „SeraCare Life Sciences” (США) «Anti-EBV Mixed Titer Performance Panel PME 201», що складається з 25 охарактеризованих зразків сироваток та плазми крові людини, з яких 7 зразків містять антитіла класу IgM специфічні до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр. Всі зразки панелі PME 201 в тест-системі «Vitrotest EBV VCA-IgM» визначались коректно, відповідно до паспортних даних. При дослідженні специфічності тест-набору «Vitrotest EBV VCA-IgM» з використанням 54 сироваток, негативних на антитіла до вірусу Епштейна-Барр всі зразки були виявлені негативними.

В порівняльних дослідженнях тест-системи «Vitrotest EBV VCA-IgM» з іншою комерційною тест-системою, що має CE маркування, було проаналізовано 37 сироваток, що містять антитіла класу IgM до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр – в обох тест-системах всі сироватки були позитивні.

11.2. Точність

Відтворюваність результатів в межах однієї постановки аналізу (Intra assay reproducibility)

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали в 32 повторях на двох серіях тест-систем.

№ сироватки	ОГ середня	CV ₁ , %	CV ₂ , %
251	1,036	5,4	5,9
353	2,382	5,3	4,9

Відтворюваність результатів між різними постановками аналізу (Inter assay reproducibility)

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали протягом трьох днів в трьох постановках аналізу, по 8 повторів в кожному аналізі.

№ сироватки	ОГ середня	CV, %
251	1,081	6,7
353	2,516	7,2

12. Обмеження аналізу

Позитивний результат в тест-системі «Vitrotest EBV VCA-IgM» є свідченням наявності у пацієнта антитіл класу IgM специфічних до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр. Антитіла класу IgM специфічні до VCA присутні при гострій Епштейна-Барр вірусній інфекції. Не завжди антитіла цього класу є доказом первинної інфекції, при реактивації також можуть синтезуватись специфічні антитіла класу IgM.

Не можна повністю виключити перехресні реакції з антитілами класу IgM до цитомегаловірусу, оскільки обидва герпесвіруси мають схожі антигенні детермінанти. Для виключення хибнопозитивного результату рекомендується досліджувати серологічний профіль в динаміці (CMV IgG, CMV IgM, VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgM), а також застосовувати методи виявлення ДНК вірусу в біологічному матеріалі пацієнта та враховувати клінічну картину захворювання

Література

1. Возбудители вирусных инфекций человека. // Медицинская микробиология. / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 745-822.
2. Возіанова Ж.І. Інфекційні і паразитарні хвороби: В 3 т. – К: Здоров'я, 2001.
3. Hess R.D. Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective: Still Challenging after 35 Years.// J. Clin.Microbiol. – 2004. – V.42, No.8 – P. 3381-3387.
4. Lennette, E.T. Diagnosis of Epstein-Barr Virus Infections, In E.H. Lennette (ed.), Laboratory Diagnosis of Viral Infections. - Dekker Publishing, New York, 1985. - P.257-271.
5. Lennette, E.T. Epstein-Barr Virus, In P.R. Murray (ed.), Manual of Clinical Microbiology. - ASM Press Publishing, Washington, D.C., 1995. - P.905-910.
6. Sumaya, C.V., Jenson, H.B. Epstein-Barr Virus, In N.R. Rose (ed.), Manual of Clinical Laboratory Immunology. - ASM Press Publishing, Washington, D. C., 1992. - P.568-575.
7. Roubalova,K., Roubal, J., Skopovy, P., et. al. Antibody Responses to Epstein-Barr Antigens in Patients with Chronic Viral Infection. // Journal of Medical Virology. - 1988. - 25(1) - P. 115-122.

Умовні позначення

Інтерпретація умовних символів:

	«Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i> »
	«Код партії»
	«Номер за каталогом»
	«Дата виготовлення»
	«Використати до»
	«Температурне обмеження»
	«Містить достатньо для (n-) випробувань»
	«Берегти від прямих сонячних променів»
	«Увага, дивись інструкцію з використання»
	«Виробник»
	«Ознайомлення з інструкціями для застосування»

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтеся до виробника:



Товариство з обмеженою відповідальністю «Іноваційно-виробнича компанія «Рамінтек»
03039 Україна, м. Київ, пр-т 40-річчя Жовтня, 7, оф. 227 (юридична адреса)
07300 м. Вишгород, Київська обл., вул. Шолуденка, 19 (фактична адреса)
тел. +380 44 222-76-72

Схема проведення аналізу в тест-системі «Vitrotest EBV VCA-IgM»

Витримати реагенти 30 хв. при 18-25 С

Приготувати розчин для промивання планшета, розвести 20х концентрат розчину для промивання *Tr100* очищеною водою 1:20 (тобто, 1+19). Наприклад, 4 мл розчину + 76 мл води

Заповнити бланк внесення проб для аналізу

Розвести досліджувані зразки та контролі розчином для розведення сироваток (1:20).
Наприклад, 190 мкл розчину + 10 мкл зразків

Внести по 100 мкл розведених контролів та зразків в лунки:
A1 – позитивний контроль, B1, C1, D1 – негативний контроль,
E1 та решта лунок – досліджувані зразки

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату (зелений)

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину ТМБ-субстрату

Інкубувати планшет 30 хв. в темряві при кімнатній температурі (18-25°C)

В лунки стрипів внести по 100 мкл стоп-реагенту

Виміряти оптичну густину в лунках на спектрофотометрі при 450/620 нм

Розрахувати граничне значення (ГЗ) в тест-системі «Vitrotest EBV VCA-IgM» за формулою
$$ГЗ = ОГ K_{\text{середнє}} + 0,25.$$

Розрахувати індекс позитивності (ІП) для досліджуваних зразків:

$$ІП = \frac{ОГ \text{ досліджуваного зразка}}{\text{граничне значення}}$$

Провести облік результатів аналізу згідно таблиці

Значення ІП	Результат
$ІП_{\text{зразка}} > 1,1$	позитивний
$0,9 \leq ІП_{\text{зразка}} \leq 1,1$	невизначений
$ІП_{\text{зразка}} < 0,9$	негативний