



ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ
ДІАГНОСТИЧНІ СИСТЕМИ УКРАЇНА

REF

CM-153



96

ІНСТРУКЦІЯ
по застосуванню
Набору реагентів
«ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М»
Тест-система імуноферментна для виявлення антитіл класу IgM до
цитомегаловірусу, набір діагностичний

ЗМІСТ

I. ПРИЗНАЧЕННЯ.....	3
II. ПРИНЦИП ТЕСТУ	3
III. СКЛАД НАБОРУ РЕАГЕНТІВ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М»	3
IV. АНАЛІТИЧНІ І ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	4
V. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	4
VI. УТИЛІЗАЦІЯ І ЗНИЩЕННЯ.....	5
VII. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ	5
VIII. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ.....	5
IX. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ.....	5
X. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.....	6
XI. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ.....	6
XII. ОБМЕЖЕННЯ ТЕСТУ	7
XIII. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ.....	7
XIV. ГАРАНТІЙНІ ЗОБОВ'ЯЗАННЯ.....	8
XV. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.....	8
Додаток.....	9

Набір реагентів розрахований на проведення 96 (один розбірний планшет) визначень, включаючи контрольні; призначений як для ручної постановки, так і для постановки на ІФА-аналізаторах відкритого типу з можливістю дробового використання.

I. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М» Тест-система імуноферментна для виявлення антитіл класу IgM до цитомегаловірусу, набір діагностичний, призначений для виявлення антитіл класу М до цитомегаловірусу в зразках сироватки (плазми) крові людини.

II. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Принцип дії набору – непрямий двостадійний імуноферментний аналіз. При постановці ІФА у тест-системі «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М» досліджувані зразки сироваток крові вносять в лунки стрипів імуносорбенту з іммобілізованими рекомбінантними антигенами ЦМВ. При наявності в зразках специфічних антитіл класу М до цитомегаловірусу, утворюється імунний комплекс антиген-антитіло (стадія 1), який детектується кон'югатом-антитіла IgM до людини, мічені пероксидазою хрому (стадія 2).

Візуалізація відбувається в хімічній реакції пероксидази з ТМБ-Субстратним розчином з утворенням кольорової реакції, інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна кількості антитіл класу М до цитомегаловірусу, що містяться в досліджуваному зразку.

III. СКЛАД НАБОРУ РЕАГЕНТІВ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М»

3.1. Склад набору.

Таблиця 1

Характеристики реагентів		Форма випуску
Імуносорбент	Полістироловий планшет 96-лунковий розбірний до стрипів (або до лунок), в лунках якого сорбована суміш рекомбінантних антигенів ЦМВ.	1 планшет
Кон'югат	Антитіла IgM до людини, мічені пероксидазою хрому. Прозора або злегка опалесцююча жовтого кольору рідина.	1 флакон 11,0 мл
К+	Контрольний позитивний зразок, інактивований. Прозора або злегка опалесцююча червоного кольору рідина.	1 флакон 1,2 мл
К-	Контрольний негативний зразок, інактивований. Прозора або злегка опалесцююча зеленого кольору рідина.	1 флакон 2,5 мл
БР	Блок-розчин для розведення сироваток. Прозора або злегка опалесцююча блідо-рожевого кольору рідина.	1 флакон 11,0 мл
РРС	Розчин для попереднього розведення сироваток. Прозора або злегка опалесцююча фіолетово-синього кольору рідина.	1 флакон 11,0 мл
ПР	Промивний розчин. Концентрат (×25) фосфатно-сольового буферного розчину з твином (ФСБ-Т). Прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина, допустимо утворення осаду, повністю яка розчиняється при температурі від 35 до 39 °С і струшуванні.	1 флакон 50,0 мл
Стоп-реагент	Розчин сірчаної кислоти. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 25,0 мл
ТМБ-Субстратний розчин	Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 14,0 мл
Планшет для попереднього розведення сироваток	Полістироловий планшет з безбарвними лунками	1 планшет

Обсяги реагентів вказані на етикетках флаконів.

Набір комплектується готовими реагентами і концентрованими розчинами. Є маркування допомогою штрих-кодів, а також колірне кодування для ряду реагентів. Колірне кодування реагентів – умовне позначення кольору/забарвлення рідких реагентів. Кон'югат – жовтий, К - зелений, К+- червоний.

Реагенти поміщають у картонну коробку або пакет поліетиленовий, куди вкладають інструкцію по застосуванню.

3.2 Приналежності: кришка до полістиролових 96-лункових планшетів (1 шт.) або плівки захисні для ІФА планшетів (2 шт.), одноразові наконечники (16 шт.), ванночки пластикові для рідких реагентів (2 шт.), поліетиленовий пакет з замком Zip-Lock (1 шт.).

3.3. У комплект поставки входять: набір реагентів (додатково може бути укомплектований приладдям), інструкція із застосування, паспорт.

IV. АНАЛІТИЧНІ І ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Діагностична чутливість оцінювалася при тестуванні:

- Стандартній панелі "Anti – CMV Mixed Titer Performance Panel" PTC202(M), BBI Diagnostics, n= 11. Чутливість склала – 100%;
- Попередньо охарактеризованих у тестах порівняння анти-ЦМВ-МУ позитивних зразків (42 образи сироватки (плазми) крові). Відносна чутливість за цим зразком 92,2% (95% CI: 81,0-97,5%).

Специфічність оцінювалася при тестуванні

- Стандартній панелі "Anti – CMV Mixed Titer Performance Panel" PTC202(M), BBI Diagnostics, n= 11. Специфічність становила – 100%;
- Попередньо охарактеризованих у тестах порівняння анти-ЦМВ-М негативних зразків (n=88). Специфічність за цим зразком 97,7% (95% CI: 92,1-99,4).

Еквівалентність зразків сироватки та плазми крові людини

Додатковими дослідженнями колекції позитивних (n=25) і негативних (n=25) парних зразків сироватки та плазми крові людини була показана їх еквівалентність, що дозволяє віднести показники діагностичної чутливості та специфічності до обох видів досліджуваних зразків.

V. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

5.1. Потенційний ризик застосування набору – перелік В.

5.2. Набір призначений для професійного використання в клінічній лабораторній діагностиці.

5.3. Для отримання надійних результатів необхідно суворе дотримання Інструкції по застосуванню набору реагентів.

5.4. Достовірність результатів залежить від правильного виконання наступних правил лабораторної практики:

- ІФА слід проводити в приміщенні з кімнатною температурою, що не перевищує встановлені норми у відповідності з існуючими нормативними документами.
- Не можна використовувати реагенти з наборів різних серій або змішувати їх при приготуванні розчинів, крім:
 - **неспецифічного компонента ПР** (x 25), який взаємозамінний у всіх наборах реагентів виробництва ТОВ «Діагностичні системи Україна»;
 - **Стоп-реагенту, який може бути взаємозамінним залежно від молярності розчину.**
 - **PPC (маркується ToRCH)**, який взаємозамінний всі набори для діагностики ToRCH-інфекцій, виробництва ТОВ «Діагностичні системи Україна».
 - **ТМБ-Субстратного розчину**, які взаємозамінні всі набори для діагностики ToRCH-інфекцій, виробництва ТОВ «Діагностичні системи Україна».

5.5. Правила лабораторної практики і запобіжні заходи:

- Не змінювати процедуру проведення аналізу.
- Не використовувати реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на упаковці набору.
- Не проводити ферментну реакцію в присутності реактивних парів (кислота, луг, альдегіди) або пилу.
- Ретельно промивати лабораторний посуд.
- Робочі розчини готувати обережно, виключаючи будь-які забруднення.
- Не використовувати одну і ту ж пластикову ванночку для рідких реагентів для внесення кон'югату та ТМБ-Субстратного розчину.
- Перед використанням ванночки пластикові для рідких реагентів обполоснути водою дистильованою (деіонізованою). Багаторазові ванночки для ІФА аналізаторів відразу після роботи промити водою дистильованою водою (деіонізованою). Потім прополоскати 70% розчином етилового спирту і знову сполоснути водою дистильованою (деіонізованою).
- Не допускати висихання лунок планшета імуносорбенту між окремими операціями.
- Не допускати контакту металевих предметів з розчинами кон'югатів і ТМБ-Субстратного розчину.
- Дотримуватися рекомендовану кількість циклів промивки і переконатися, що лунки повністю заповнені, не допускати залишку рідини у лунках після промивання.
- Використовувати валідовані дозатори та обладнання, нові одноразові наконечники для кожного зразка.

- Не піддавати реагенти впливу високої температури або прямого сонячного світла під час інкубації і зберігання.
- Промивати руки після роботи з набором реагентів і досліджуваними зразками.
- При роботі з набором реагентів і досліджуваними зразками використовувати спецодяг і одноразові рукавички.
- Необхідно уникати розплескування зразків або розчинів, що містять зразки. При розплескуванні негайно дезінфікувати поверхню розчином який містить хлор кошти, згідно інструкції по застосуванню.
- Відходи, що містять біологічні зразки, потрібно нейтралізувати до скидання в каналізацію.
- У приміщенні з імунодіагностичними матеріалами не можна вживати їжу, пити, палити, застосовувати косметику
- Сироватки (плазми) крові людини, використані при приготуванні К-, не містять антитіла класу М до цитомегаловірусу, HBsAg, антигену р24 ВІЛ-1 та антитіла до ВІЛ-1, 2 і HCV.
- Сироватки (плазми) крові людини, що використовуються при приготуванні К+ містять антитіла класу М до цитомегаловірусу, і не містять HBsAg, антигену р24 ВІЛ-1 та антитіла до ВІЛ-1, 2 і HCV.
- При роботі з реагентами набору К-, К+, досліджуваними зразками та обладнанням треба поводитись як з потенційно небезпечними матеріалами, оскільки жоден відомий метод тестування не може гарантувати відсутність інфекційних агентів.

5.6. Паспорт безпеки на набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М» може бути представлений за запитом клієнта.

VI. УТИЛІЗАЦІЯ І ЗНИЩЕННЯ

Відходи, які утворюються в результаті використання набору і приладдя, відносяться до медичних відходів відповідно і повинні бути знешкоджені відповідно до діючих правил і нормативів.

VII. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ

- Вода дистильована або деіонізована;
- Дозатори піпеточні змінного об'єму для відбору рідин;
- Одноразові наконечники для дозаторів піпеточних;
- Інкубатор мікропланшетний (термостат) (37,0±1,0)°С;
- Пристрій для промивання планшетів (вошер);
- Мікропланшетний рідер (аналізатор імунологічний) (фільтри 450 нм і 620-680 нм);
- Папір фільтрувальний лабораторний;
- Для постановки ІФА в автоматичному режимі - будь-яка модель ІФА-аналізаторів відкритого типу.

VIII. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Збір зразків крові людини проводити у відповідності до поточної практики методом венепункції. Для аналізу використовувати нерозведену сироватку(плазму) крові людини. Щоб уникнути гемолізу потрібно як можна швидше відділити плазму від еритроцитів або сироватку від згустка. Зразки, що містять агрегати або осад, освітлювати центрифугуванням при 1000-2000 об/хв (15 хв, 2-8 °С). Зразки з бактеріальним ростом, вираженим гемолізом і гіперліпідемією (сильна опалесценція) аналізувати не можна!

Зразки можна зберігати відповідно до вимог існуючих нормативних документів. Тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 20 °С (заморожування/відтавання не більше 3 разів). Щоб уникнути осадження фібрину плазму розморожувати протягом декількох хвилин при температурі (39,0±1,0)°С на водяній бані.

IX. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. Реагенти, готові до застосування:

- **Імуносорбент.** Планшет, що складається з 12 стрипів, упакований в фольгований пакет. Розкрити фольгований пакет, відступивши 1 см від краю пакета. Вийняти з пакета рамку і необхідну кількість стрипів. Вставити стрипи у рамку.
- **К-, К+, РРС, БР, Кон`югат, ТМБ-Субстратний розчин, Стоп-реагент (0,2М).**

Перед використанням флакони з реагентами перемішати, не допускаючи спінювання.

2. Реагенти, що потребують попереднього приготування

ПР - промивний розчин. Концентрат (×25) фосфатно-сольового буферного розчину з твином (ФСБ-Т). Перед приготуванням робочого розчину для промивання необхідно вміст флакону з концентратом ретельно

перемішати. Необхідний обсяг концентрату розвести в 25 разів відповідним об'ємом води дистильованою або деіонізованою (див. табл. № 3 і 4) і ретельно перемішати

Таблиця 3

Витрата реагентів набору при ручній постановці ІФА

Кількість використуваних стрипів/лунок	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 лунка	
Робочий ПР	ПР (x 25), мл	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0	33,0	40,0	0,2
	Вода, мл	72,0	144,0	216,0	288,0	360,0	432,0	504,0	576,0	648,0	720,0	792,0	960,0	4,8

Х. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Перед використанням набір витримати не менше 30 хв при кімнатній температурі.

Проведення ІФА при ручній постановці:

Етап	Процедура постановки
1	У лунки планшета для попереднього розведення внести 90 мкл РРС і 10 мкл досліджуваних зразків. Вміст лунок ретельно перемішати обережним піпетуванням, при цьому фіолетово-синій колір повинен змінитися на блакитно-зелений.
2	Внести в лунки імуносорбенту по 100 мкл К+, -. 1 стрип – 1 лунка К+, 2 лунки К-; 2 стрипи і більше – 1 лунка К+, 3 лунки К-.
3	В інші лунки імуносорбенту внести 90 мкл БР і 10 мкл попередньо розведених досліджуваних (кінцеве розведення досліджуваних зразків 1:100). Вміст лунок ретельно перемішати піпетуванням.
4	Планшет накрити кришкою або плівкою і витримати в термостаті 30 хв при температурі $(37,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$.
5	З допомогою промивного пристрою видалити вміст лунок в ємність з дезінфікуючим розчином і промити планшет 4 рази робочим розчином ПР. Для цього обережно внести робочий ПР в лунки планшета до країв (не менше 380 мкл в лунку), витримати 40 с, потім видалити в ємність з дезінфікуючим розчином. При необхідності видалити залишки вологи шляхом вілстукування по складеному в кілька шарів фільтрувального паперу <i>Рекомендується використовувати автоматичний мікроплашетний вошер. Недостатня промивка може несприятливо вплинути на точність аналізу.</i>
6	У всі лунки планшета внести по 100 мкл кон'югату.
7	Планшет накрити кришкою або плівкою і витримати в термостаті протягом 30 хв при температурі $(37,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$.
8	Видалити вміст лунок і промити планшет 4 рази робочим ПР, як описано в п 5.
9	У всі лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ-Субстратного розчину.
10	Планшет витримати 20 хв у захищеному від світла місці при кімнатній температурі.
11	У всі лунки внести по 150 мкл стоп-реагенту і провести облік результатів, використовуючи рідер.

Схема проведення ІФА наведена в Додатку.

Проведення ІФА в автоматичному режимі

Таблиця 4

Витрата реагентів набору при постановці ІФА на автоматичних аналізаторах.

Кількість використуваних стрипів	Робочий промивний розчин, (ПР)	
	ПР (x 25), мл	Вода, мл
12	48,0	1152,0

- Включити аналізатор і провести підготовку до роботи згідно інструкції по експлуатації аналізатора¹.
- Завантажити в аналізатор компоненти набору реагентів (планшети, контрольні зразки, робочі розчини в спеціальних контейнерах або місткостях).
- Завантажити в аналізатор досліджувані зразки (не менше 300 мкл).
- Запустити програму проведення ІФА, адаптовану для даного набору реагентів.
- По закінченні аналізу прилад видає протокол за результатами дослідження, в якому дається характеристика кожного досліджуваного зразка і контрольних зразків К+ і К-.
- Далі облік результатів проводити аналогічно розділу XI.

¹ при відсутності в програмі промивного пристрою стандартних опцій, таких як придонна та перехресна аспірація, регулювання позицій донної аспірації, швидкості промивання і сили потоку наливається рідини, часу замочування і часу аспірації, а також швидкості струшування, щоб уникнути отримання не коректних результатів, допускається введення в процедуру додаткового відмивання планшета.

XI. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

Облік результатів провести спектрофотометрично при двох довжинах хвиль – 450 нм і при референс-довжині хвилі в діапазоні від 620 до 680 нм з налаштуванням приладу по «повітрю». Припустимо облік результатів при одній довжині хвилі 450 нм.

Реакцію слід враховувати, якщо значення оптичної густини (ОП) в лунці з К+ – не менше 0,600, а середнє значення ОП в лунках з К- – не більш 0,200.

ОПкрит. розрахувати за формулою:

$$\text{ОПкрит} = \text{ОПср К-} + \text{А,}$$

де А – коефіцієнт, що визначається методом статистичної обробки результатів постановки ІФА на підприємстві-виробнику, величину якого вказують для кожної серії в інструкції по застосуванню, що вкладається в коробку з набором, і в паспорті на серію.

Зразок вважати позитивним, якщо ОП \geq ОПкрит;

Зразок вважати негативним, якщо ОП $<$ ОПкрит.

Інтерпретація результатів аналізу

Негативний результат аналізу на антитіла класу М до цитомегаловірусу не може повністю гарантувати відсутності гострої ЦМВ інфекції, т. к. дані антитіла не завжди утворюються при гострій ЦМВ інфекції.

ХІІ. ОБМЕЖЕННЯ ТЕСТУ

- Неприпустима постановка діагнозу тільки на підставі одержаних результатів тестування на анти-ЦМВ класу М. Постановка діагнозу гострої ЦМВ інфекції можлива лише при наявності клінічних проявів та проведення комплексу лабораторних досліджень (виявлення збільшення рівня антитіл класу G до ЦМВ, визначення високого рівня антитіл класу М до ЦМВ, виділення вірусу в сечі або високі титри ДНК-ЦМВ в крові).
- Відмінності в результатах тестування різними тестами зразків від пацієнтів, інфікованих цитомегаловірусом, можуть бути викликані відмінностями в імунологічних реакціях залежно від виду використовуваних антигенів.

ХІІІ. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ

13.1	Умови і терміни зберігання набору реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М»		
	Зберігати в сухому, захищеному від світла місці, при температурі від 2 до 8 °С. Заморожування не допускається.	Термін придатності 18 місяців. Термін придатності серії вказаний на упаковці набору. Набір з вичерпаним терміном придатності використанню не підлягає.	
13.2	Умови та терміни транспортування набору реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЦМВ-М»		
	при температурі від 2 до 8 °С		
	при температурі до 25 °С	не більше 10 діб	
13.3	при температурі до 30 °С		
	при температурі до 30 °С		
	не більше 5 діб		
13.3	Умови та термін зберігання робочих розчинів (зберігати в чистоту, щільно закритій ємності, в захищеному від світла місці)		
	Робочий ПР	при температурі від 18 до 25 °С	не більше 14 діб
		при температурі від 2 до 8 °С	не більше 28 діб
13.4.	Умови і терміни зберігання невикористаних набору реагентів після відкриття (флакони з реагентами щільно закрити гвинтовими кришками і зберігати в сухому, захищеному від світла місці)		
	Імуносорбент	При температурі від 2 до 8 °С. Після відкриття невикористані стрипи імуносорбенту без рамки помістити в фольгований пакет (не видаляючи силікагель!) і ретельно герметизувати. Для цього край пакета слід звернути 2-3 рази і помістити фольгований пакет з стрипами в поліетиленовий пакет з замком Zip-Lock.	в упаковці виробника протягом терміну придатності набору реагентів.
		Невикористані рідкі реагенти набору і планшет для попереднього розведення сироваток	при температурі від 2 до 8 °С.
	Кон'югат, ТМБ-		протягом 3 місяців

Субстратний розчин		
--------------------	--	--

XIV. ГАРАНТІЙНІ ЗОБОВ'ЯЗАННЯ

- Виробник гарантує відповідність продукту, що випускається вимогам нормативної і технічної документації.
- Безпека і якість продукту гарантуються протягом усього терміну придатності.
- Рекламация на специфічні і фізичні властивості набору направляти на адресу підприємства-виготовлювача ТОВ «Діагностичні системи Україна», Україна, 04107, м. Київ, вул. Багговутівська, б. 8/10, тел. 044 361 55 76 E-mail: ua@npods.ru.

Для проведення розслідування і отримання об'єктивних висновків щодо заявленої рекламации необхідно надання:

- 1.рекламаційного набору реагентів,
- 2.всіх зразків кроводач пацієнта,
- 3.протоколів досліджень з використанням інших методів із зазначенням серії, термінів придатності,
- 4.протоколів досліджень з використанням референтних наборів реагентів із зазначенням номера серії, терміну придатності.

XI. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.


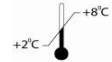








	Медичний виріб для діагностики in vitro		Температурний діапазон
	Виробник		Використовувати до (число/місяць/рік)
	Номер за каталогом		Дата виготовлення (місяць/рік)
	Вмісту достатньо для проведення п-кількості тестів (визначень)		Зверніться до інструкції по застосуванню
	Код партії (номер серії)	Code: X.X.XX	Ідентифікаційний код
	Знак відповідності		

СХЕМА АНАЛІЗУ

1	Внести	По 90 мкл РРС і 10 мкл досліджуваних зразків (використовувати планшет для попереднього розведення)
2	Внести	По 100 мкл К+, К- (використовувати імуносорбент)
3	Внести	По 90 мкл БР
4	Внести	По 10 мкл досліджуваних зразків, попередньо розведених РРС (див. п. 1)
5	Інкубувати	30 хв., (37,0±1,0)°С, термостат
6	Промити планшет	Робочий ПР, не менше 380 мкл, 4 рази
7	Внести	По 100 мкл кон`югату
8	Інкубувати	30 хв, (37,0±1,0)°С, термостат
9	Промити планшет	Робочий ПР, не менше 380 мкл, 4 рази
10	Внести	По 100 мкл ТМБ-Субстратного розчину
11	Інкубувати	20 хв, кімнатна температура, в захищеному від світла місці
12	Внести	По 150 мкл стоп-реагенту
13	Облік результатів	450 нм/620-680 нм або 450 нм