



Цитомегаловірус ІgM ІФА
Каталожний No. E-CVM-K02



и захоплення ІgM ІФА



| | |
|-------------------------|---|
| RD-RatioDiagnostics | Phone: + 49 (0) 69 / 7807 4942 |
| Westerbachstraße 47 | Fax: + 49 (0) 69 / 7807 4998 |
| 60489 Frankfurt am Main | Email: info@rd-labs.com |
| Germany | www.RD-LABS.com |

Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18,
info@novamedline.com, www.novamedline.com

ПЕРЕДБАЧУВАНЕ ВИКОРИСТАННЯ

Тестова система RD-RatioDiagnostics E-CVM-K02 на цитомегаловірус IgM ІФА - це набір імуноферментних аналізів ІФА, що забезпечує матеріал для виявлення антитіл класу IgM до цитомегаловірусу в сироватці крові або плазмі людини. Цей аналіз призначений лише для використання in vitro.

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ТА ПОЯСНЕННЯ

Цитомегаловірус (ЦМВ) належить до сімейства вірусів герпесу і передається через слину, статевий контакт, перинатально, або при переливанні крові або трансплантації органів. Зараження ЦМВ виявляється поширеним у всьому світі, незважаючи на відносну рідкість клінічних захворювань. CMV спричиняє більшість вроджених вірусних інфекцій у людей, із частотою від 0,2 до 2,2% живонароджених у різних популяціях. Внутрішньоматкова передача вірусу може відбуватися в будь-який час під час гестації, але більшість немовлят, ймовірно, інфікуються під час народження або після народження через потрапляння інфікованого CMV материнського молока. Хвороба новонароджених із зараженням ЦМВ - це часто важка смертельна хвороба, яка зазвичай вражає слинні залози, мозок, нирки, печінку та легені. Після первинної інфекції ЦМВ може зберігатися у стані спокою як латентна інфекція. Під час імунодепресивного лікування пацієнтів (наприклад, реципієнтів трансплантацій органів) латентна інфекція може активуватися і виглядати як вторинна інфекція. ЦМВ є одним із найсерйозніших та найчастіших збудників хворого на СНІД. Пневмонія CMV, інфекція, що загрожує життю, може виникнути приблизно у 20% випадків у пацієнтів з ТКМ (трансплантацією кісткового мозку). Здатність відрізнити первинну від прихованої інфекції має велике значення, оскільки первинні інфекції матері мають більший патологічний потенціал для плода. Діагностика проводиться в основному за допомогою серологічних даних щодо антитіл (класів IgG та IgM) до ЦМВ. Однак необхідно перевірити зразок на специфічний IgM; наявність специфічних антитіл IgM вказує на первинну інфекцію, тоді як наявність специфічних антитіл IgG вказує на імунний статус пацієнтів.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Аналіз CMV на IgM заснований на принципі захоплення цих імуноглобулінів та подальшої ідентифікації тих, які є специфічними, використовуючи їх здатність зв'язувати антиген, кон'югований з пероксидазою. Захоплення проводиться за допомогою моноклональних антитіл, зв'язаних з твердою фазою (стріпи мікропланшету). Антиген складається з очищеного та інактивованого антигена цитомегаловірусу.

РЕАГЕНТИ

Набір RD-RatioDiagnostics Цитомегаловірус IgM ІФА містить достатню кількість реагентів для 96 лунок. Кожен комплект містить наступні реактиви

| МАТЕРІАЛИ НАДАНІ | КІЛЬКІСТЬ | Каталожний номер NO. |
|--|--------------|----------------------|
| Стріпи мікропланшету, покриті антигеном Х.пілорі | Один планшет | E-ABM-10 |
| Промивний концентрат | Одна пляшка | E-WSL-30 |
| Розчинник зразку | Одна пляшка | E-DLB-40 |
| ТМБ - Субстрат | Одна пляшка | E-TMB-08 |
| Негативний контроль | Один флакон | E-CVM-01 |
| Пороговий контроль | Один флакон | E-CVM-02 |
| Позитивний контроль | Один флакон | E-CVM-03 |
| CMV HRP кон'югат | Один флакон | E-CVM-20u |
| Розчинник кон'югата | Одна пляшка | E-CVM-21 |
| Стоп розчин | Одна пляшка | E-STP-09 |

МАТЕРІАЛИ НЕ НАДАНІ

Рідер мікропланшетів для вимірювання поглинання при 450 нм

- Дейонізована / дистильована вода
- Точна піпетка для подачі 10 мкл, 100 мкл та 1 мл
- Напівавтоматична піпетка для подачі 100 мкл
- Автоматичний вошер для мікропланшетів
- Абсорбуючий матеріал для промокання стріпів
- Інкубатор

НАДАНІ РЕАГЕНТИ:**Стріпи мікропланшету, покриті антитілами:**

Один тримач, що містить 12x8 (96) мікротитрувальні лунки, покриті моноклональними антитілами IgM людини. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності. Вийміть тримач та стріпи, які будуть використовуватися, з упаковки з фольги та покладіть невикористані стріпи в поліетиленовий пакет з силікагелем, видаліть повітря та ущільніть, натиснувши на кришку. Після відкриття продукт стабільний протягом 4 тижнів при температурі 2-8 ° С.

Концентрат для промивання:

Одна пляшка, 100 мл, що містить сольовий розчин, забуферений фосфатом, концентрований 10-кратний, що містить 0,5 об. Перед використанням розбавити дейонізованою / дистильованою водою. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

Розчинник зразка:

Одна пляшка, 100 мл, що містить розчин BSA з 0,09% азидом натрію в якості консерванту. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

Контроль IgM цитомегаловірусу

Три флакони, кожен 2 мл сироватки людини в 0,01 М фосфатному буфері з BSA, що містить 0,09% азиду натрію в якості консерванту. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

CMV-HRP-кон'югат :

Одна пляшка, 1,5 мл, що містить антиген CMV, мічений пероксидазою, у фосфатному буферному розчині з 0,02% прокліну. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності дата.

CMV - кон'югатний розчинник

Одна пляшка, 13 мл, що містить розчин BSA з 0,02% прокліном як консервантом. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

ТМБ-субстрат:

Одна пляшка, 12 мл, що містить тетраметилбензидин (ТМБ) і перекис водню, стабілізовані в цитратному буфері, рН 3,8. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності. Розчин для зупинки: Одна пляшка, 15 мл, що містить 0,3 М H₂SO₄ у розчині. Зберігати при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Для використання *in vitro* .

Слід дотримуватися таких універсальних належних лабораторних практик: не їжте, не пийте, не паліть і не застосовуйте косметику там, де обробляють імунодіагностичний матеріал. Не піпетувати через рот. Одягайте лабораторні халати та одноразові рукавички під час роботи з імунодіагностичним матеріалом. Після цього ретельно вимийте руки. Закрийте робочу зону одноразовим абсорбуючим папером. Негайно витріть розлиті плями та знезаразьте уражені поверхні. Уникайте утворення аерозолів. Забезпечити достатню вентиляцію. Обробляйте та утилізуйте всі реагенти та матеріали відповідно до чинних норм.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ: ПОТЕНЦІАЛЬНИЙ БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ

Цей набір може містити деякі реагенти, виготовлені з людської сировини та сировини тваринного походження (наприклад, сироватки, плазми або бичачого альбуміну) або використовуються разом із джерелом людини або тваринного матеріалу. Матеріал у цьому наборі був протестований методами, рекомендованими CE, і виявлено, що він не реагує на антитіла до ВІЛ-1/2, HCV та HbsAg; у вихідних матеріалів тваринного походження немає даних про зараження. Жоден доступний метод випробувань не може дати повних гарантій усунення потенційного ризику для біологічної безпеки. Обробляйте всі реагенти та зразки пацієнтів на рівні Біобезпеки 2, як рекомендується для будь-якого потенційно інфекційного людського матеріалу в Центрах контролю за захворюваннями / Посібник Національного інституту охорони здоров'я "Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях", 4-е видання, квітень 1999 року.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ:

Деякі реагенти цього набору містять азид натрію як консервант у концентраціях нижче нормативної межі <0,1%. Концентрований азид натрію, хоча і значно розбавлений, подразнює шкіру та слизові оболонки і може реагувати зі свинцевим та мідним водопроводом, утворюючи вибухонебезпечні азиди металів, особливо якщо накопичуються. Крім того, ТМБ та сірчана кислота у концентрованих кількостях також подразнюють шкіру та слизові оболонки. Ці речовини знаходяться у розведеному вигляді, і тому можуть значно мінімізувати ризики впливу, але не повністю. Забезпечити достатню вентиляцію. Уникайте контакту зі шкірою, очима та одягом. У разі контакту з будь-яким із цих реагентів ретельно промити водою та звернутися до лікаря. Утилізуйте всі небезпечні реагенти, промиваючи великими обсягами води, щоб запобігти накопиченню хімічної небезпеки в сантехнічній системі. Зразок розчинника та засоби контролю містять розбавлену BSA. Для отримання додаткової інформації щодо небезпечних речовин у наборі, будь-ласка, зверніться до специфічних паспортів безпеки (SDS) за запитом.

ЗБІР ЗРАЗКІВ І ОБРОБКА

Слід використовувати сироватку та дотримуватися звичайних запобіжних заходів щодо проколювання вени. Зразки можна зберігати при 2-8 ° C протягом 2 днів. Триваліше зберігати при -20 ° C. Не використовуйте гемолізовані або ліпемічні зразки. Уникайте повторного заморожування та розморожування зразків.

ПІДГОТОВКА ДО АНАЛІЗУ

Для успішного використання продукту необхідне глибоке розуміння цієї вставки. Надійні результати будуть отримані лише за допомогою точних лабораторних методів та точно слідуючи вкладенню в упаковку. Перед використанням доведіть усі реактиви та зразки до кімнатної температури (~ 25 ° C). Ретельно перемішайте реагенти та зразки перед використанням обережною інверсією. Не змішуйте різні партії будь-яких компонентів набору в рамках окремого аналізу. Не використовуйте жодних компонентів після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Неповне миття негативно вплине на результат та точність аналізу. Щоб мінімізувати потенційний дрейф аналізу через зміну часу інкубації субстрату, слід подбати про додавання стоп розчину в лунки в тому ж порядку та за швидкістю для додавання розчину хромогену ТМБ. Уникайте мікробного забруднення реагентів, особливо кон'югату, промивного буфера та розріджувача. Уникайте забруднення розчину хромогену ТМБ кон'югатом. Для кожного реагенту використовуйте чистий одноразовий наконечник піпетки. Уникайте піпеток з металевими деталями. Ємності та напівавтоматичні наконечники для піпеток, що використовуються для кон'югату та ТМБ, можуть бути використані повторно за умови, що вони ретельно промиті дейонізованою / дистильованою водою та висушені до та після кожного використання. Фермент, що використовується як етикетка, інактивується киснем і є дуже чутливим до мікробного забруднення, азиду натрію, хлористоводневої кислоти та ароматичних хлорвуглеводнів, які часто містяться в лабораторних запасах води.

Використовуйте високоякісну воду. Уникайте впливу реагентів надмірним теплом або сонячним світлом під час зберігання та інкубації.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ:**Промивний розчин:**

Перед використанням розбавте 1:10 дейонізованою / дистильованою водою. Якщо присутні кристали, їх слід розчинити при температурі 37 ° С перед розведенням. Налийте 100 мл промивного концентрату в чисту ємність і розведіть, додавши 900 мл дейонізованої / дистильованої води. Ретельно перемішати шляхом інверсії. Промивний розчин стабільний протягом 5 днів при кімнатній температурі та 2 тижні при 2-8 ° С при зберіганні в щільно закупореній пляшці.

Стріпи мікротитрування:

Виберіть кількість стріпів з покриттям, необхідних для аналізу. Залишилися невикористані лунки слід помістити в пакет, що закривається, з пакетом осушувача.

Пакет потрібно закрити повторно, щоб захистити від вологи.

Підготовка кон'югату: Додайте 100 мкл CMV-IgM-HRP в 1 мл розчинника кон'югату *

ПІДГОТОВКА ДО АНАЛІЗУ

Для успішного використання продукту необхідне глибоке розуміння цієї вставки. Надійні результати будуть отримані лише за допомогою точних лабораторних методів та точно слідуючи вкладенню в упаковку. Перед використанням доведіть усі реактиви та зразки до кімнатної температури (~ 25 ° С). Ретельно перемішайте реактиви та зразки перед використанням обережною інверсією. Не змішуйте різні партії будь-яких компонентів набору в рамках окремого аналізу. Не використовуйте будь-який компонент після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Неповне миття негативно вплине на результат та точність аналізу. Щоб мінімізувати можливий дрейф аналізу через зміну часу інкубації субстрату, слід подбати про додавання стоп розчину в лунки в тому ж порядку та за швидкістю для додавання розчину ТМБ хромоген. Уникайте мікробного забруднення реагентів, особливо кон'югату, промивного буфера та розріджувача. Уникайте забруднення розчину хромогену ТМБ кон'югатом. Для кожного реагенту використовуйте чистий одноразовий наконечник піпетки. Уникайте піпеток з металевими деталями. Ємності та напівавтоматичні наконечники для піпеток, що використовуються для кон'югату та ТМБ, можна використовувати повторно за умови, що вони ретельно промиваються дейонізованою / дистильованою водою та висушуються до та після кожного використання. Фермент, що використовується як етикетка, інактивується киснем і дуже чутливий до мікробного забруднення, азиду натрію, хлористоводневої кислоти та ароматичних хлорвуглеводнів, які часто містяться в лабораторних запасах води. Використовуйте високоякісну воду. Уникайте потрапляння реагентів надмірного тепла або сонячного світла під час зберігання та інкубації.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ:**Промивний розчин:**

Перед використанням розбавте 1:10 дейонізованою / дистильованою водою. Якщо присутні кристали, їх слід розчинити при температурі 37 ° С перед розведенням. Налийте 100 мл промивного концентрату в чисту ємність і розведіть, додавши 900 мл дейонізованої / дистильованої води. Ретельно перемішати шляхом інверсії. Промивний розчин стабільний протягом 5 днів при кімнатній температурі та 2 тижні при 2-8 ° С при зберіганні в щільно закупореній пляшці.

Стріпи мікротитрування:

Виберіть кількість стріпів з покриттям, необхідних для аналізу. Залишки невикористаних лунок слід помістити в пакет, що закривається, з пакетом осушувача. Мішок потрібно закрити повторно, щоб захистити від вологи.

Препарат кон'югату:

Додайте 100 мкл CMV-IgM-HRP в 1 мл розчинника кон'югату *

Процедура аналізу:

Усі зразки та реагенти перед використанням повинні досягти кімнатної температури (~25 ° C).

1. Позначте стріпи мікропланшету, які слід використовувати.
 2. Розведіть зразки сироватки 1: 101, розподіливши 10 мкл сироватки в 1 мл розчинника для зразків.
 3. Піпетуйте по 100 мкл кожного розведеного зразка сироватки та готових до вживання контролів у відповідні лунки.
 4. Інкубуйте протягом 45 хвилин при 37 ° C.
 5. Аспіруйте та промивайте кожну лунку чотири (4) рази протягом 30 секунд промивним розчином за допомогою автоматичної шайби для мікропланшетів або вручну за допомогою дозатора. Протріть і висушіть, перевернувши пластину на абсорбуючий матеріал.
- ПРИМІТКА:** Настійно рекомендується використовувати автоматичний вошер для мікропланшетів. Неповне промивання негативно вплине на точність аналізу. Якщо вошер для мікропланшетів недоступний,
- (a) повністю відсмоктуйте рідину з кожної лунки,
 - (b) вкачайте 0,35 мл промивного розчину в кожну лунку та (c) повторіть етапи (a) та (b) чотири рази.
6. Додайте 100 мкл кон'югату CMV-HRP у кожну лунку *.
 7. Інкубуйте протягом 45 хвилин при 37 ° C.
 8. Аспіруйте та промивайте кожну лунку чотири рази протягом 30 секунд промивним розчином за допомогою автоматичного вошера для мікропланшетів або вручну за допомогою Дозатора. Покладіть і висушіть, перевернувши пластину на абсорбуючий матеріал.
 9. Додайте 100 мкл розчину хромогену ТМБ у кожну лунку за допомогою дозатора.
 10. Інкубуйте протягом 15 хвилин при кімнатній температурі. Уникайте потрапляння прямих сонячних променів.
 11. Додайте 100 мкл стоп розчину в кожну лунку за допомогою дозатора.
 12. Прочитайте поглинання розчину в лунках протягом 30 хвилин, використовуючи рідер мікропланшетів, встановлений на 450 нм. Якщо доступна корекція довжини хвилі, встановіть прилад проводить подвійне вимірювання довжини хвилі при 450 нм з фоновою корекцією довжини хвилі, встановленої на 600 або 620 нм.

РЕЗУЛЬТАТИ

Обчисліть середню абсорбцію для кожного контролю та невідомого. Якісні результати: Якщо поглинання зразка вище, ніж поглинання зрізу, зразок позитивний на наявність специфічного IgM. Обчисліть співвідношення між середнім значенням ОГ для зразка та значенням граничного значення.

Зразок розглядається як:

Позитивний: якщо коефіцієнт > 1,1.

Сумнівний: якщо +/- 10% від граничного значення.

Негативний: якщо коефіцієнт < 0,9. Якщо результат сумнівний, повторіть тест. Якщо це залишається сумнівним, відберіть новий зразок сироватки.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- Зразок сироватки, отриманий під час пізньої фази зараження, коли присутні лише антитіла IgG, може бути негативним за цією процедурою.
- Результати тесту слід використовувати разом із інформацією, отриманою в результаті оцінки інших клінічних та діагностичних процедур.
- Уникайте повторного заморожування
- Слід уникати грубо гемолізованих, жовтяничних або ліпемічних зразків.
- Слід уникати нагрівання інактивованих сироваток.
- Серологічні дані пацієнтів із ослабленим імунітетом та новонароджених дітей мають обмежене значення.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Значення ОГ для порогового контролю повинні бути не менше 0,2. Позитивний контроль повинен мати ОГ як мінімум у 1,5 рази більше, ніж пороговий.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ**1. Чутливість та специфічність**

За допомогою цього цитомегаловірусу IgM ІФА та еталонного методу ІФА було проаналізовано 90 добре відібраних сироваток людини, зібраних із клінічної лабораторії у Франкфурті. З 90 зразків 12 були позитивними на наявність антитіл IgM до CMV за методом RD-RatioDiagnostics (RD-labs) ІФА, а референтний метод показав 12 з них як позитивні. Результати вказують на те, що RD-RatioDiagnostics CMV IgM ІФА має 100% чутливість і специфічність порівняно з комерційним тестом ІФА як еталонний метод. Результати зведені нижче.

| Порівняння аналізів | RD -RatioDiagnostics | | |
|------------------------|----------------------|------------|-----------|
| | Позитивний | Негативний | Граничний |
| Тест А | | | |
| Позитивний | 12 | 0 | 0 |
| Негативний | 0 | 78 | 0 |
| Граничний | 0 | 0 | 0 |

2. Точність

| 2. Дослідження між аналізами | | | |
|---------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Кількість повторів 32 | сироватка 1 | сироватка 2 | Сироватка 3 |
| середнє | 0.601 | 0.98 | 0.034 |
| CV | 0.012 | 0.020 | 0.0034 |
| CV% | 2.09 | 2.09 | 9.9 |

| 3. Дослідження в аналізі | | | |
|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Кількість повторів 80 | Сироватка 1 | Сироватка 2 | Сироватка 3 |
| середнє | 1.19 | 0.444 | 0.038 |
| CV | 0.037 | 0.023 | 0.004 |
| CV% | 3.0 | 5.3 | 11.2 |

3. Дослідження впливу.

Втручання у ліпемічні, гемолітичні або жовтяничні сироватки не спостерігаються до концентрації 5 мг / мл гемоглобіну, 5 мг / мл тригліцеридів та 0,2 мг / мл білірубину.

ЛІТЕРАТУРА

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to Cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against Cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of Cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
6. Lazzarotto T, Gabrielli L, Guerra B, Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in the diagnosis of maternal infection, Hum Immunol, 2004 May; 65(5) 410-415