



ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ  
**ДІАГНОСТИЧНІ СИСТЕМИ УКРАЇНА**

**REF**

Н-353



96

**І Н С Т Р У К Ц І Я**  
**по застосуванню набору реагентів**  
**«ДСУ-ІФА-АНТИ-ВЕБ-VCA-M»**

**Тест-система імуноферментна**  
**для виявлення антитіл класу IgM**  
**до капсидного антигену (VCA) вірусу Епштейна-Барр,**  
**набір діагностичний**

## ЗМІСТ

I.	ПРИЗНАЧЕННЯ.....	3
II.	СКЛАД НАБОРУ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ВЕБ-VCA-M» .....	3
III.	ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.....	4
IV.	ІНСТРУКЦІЇ З БЕЗПЕКИ.....	4
V.	НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ .....	5
VI.	ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ.....	5
VII.	ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ.....	5
VIII.	ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.....	6
IX.	ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ.....	7
X.	ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ .....	8
XI.	ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.....	8

**Набір реагентів випускається в одному комплекті:**

Набір розрахований на проведення 96 (8x12) визначень, включаючи контрольні, призначений для ручної постановки з можливістю дробового використання набору.

**I. ПРИЗНАЧЕННЯ**

Набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ВЕБ-VCA-M» – тест-система імуноферментна для виявлення антитіл класу IgM до капсидного антигену (VCA) вірусу Епштейна-Барр в сироватці (плазмі) крові людини з метою специфічної діагностики інфекції.

**II. СКЛАД НАБОРУ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ВЕБ-VCA-M»**

Таблиця 1

Характеристики реагентів	Форма випуску
Імуносорбент – полістироловий розбірний 96-лунковий планшет з прозорими безбарвними лунками, в яких сорбовані рекомбінантні капсидні антигени вірусу Епштейна-Барр.	1 планшет
Кон'югат (концентрат x 21) – моноклональні антитіла миші проти імуноглобуліну М людини, мічені пероксидазою хрому. Прозора або злегка опалесцююча, безбарвна або світло-жовтого кольору рідина.	1 флакон 1,0 мл
К+ (позитивний контрольний зразок) – сироватка крові людини, що містить антитіла класу IgM до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр, яка не містить HBsAg, антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована. Прозора або злегка опалесцююча малиново-червоного кольору рідина.	1 флакон 1,5 мл
К- (негативний контрольний зразок) – сироватка крові людини, що містить антитіла класу IgM до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр, яка не містить HBsAg, антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована. Прозора або злегка опалесцююча зеленого кольору рідина.	1 флакон 3,0 мл
РРК - розчин для розведення кон'югату. Прозора або злегка опалесцююча жовтого кольору рідина.	1 флакон 13,5 мл
БР – блок-розчин – для розведення досліджуваних зразків. Прозора або злегка опалесцююча синьо-фіолетового кольору рідина.	1 флакон 12,5 мл
ПР – промивний розчин (концентрат x 25). Прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина, допустимо утворення осаду, який повністю розчиняється при температурі від 35 до 39 °С і струшуванні.	1 флакон 50,0 мл
СБ – субстратний буферний розчин, що містить лимонну кислоту, ацетат натрію, розчин перекису водню. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 15,0 мл
ТМБ – розчин, що містить 3,3',5,5'-тетраметилбензидиндегідрохлорид. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 1,5 мл
Стоп-реагент – розчин сірчаної кислоти 0,75 моль/л. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 25,0 мл

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

Додатково може бути укомплектований набір	Кришка до полістиролових 96-лункових планшетів або захисна плівка для ІФА планшетів	1 шт
		2 шт
	Поліетиленовий пакет з замком Zip-Lock або пластикова скріпки	1 шт
	Пластикова ванночка для рідких реагентів	2 шт
	Одноразові наконечники	16 шт

### III. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

Достовірність результатів залежить від правильного виконання наступних правил лабораторної практики:

- Постановку ІФА слід проводити в приміщенні з температурою від 18 до 24 °С.
- Не можна використовувати реагенти з наборів різних серій.
- Не можна використовувати реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на упаковці.
- Перед використанням всі реагенти набору витримати при температурі від 18 до 24 °С протягом 30 хв.
- Розчини готувати обережно, виключаючи будь-які забруднення.
- Не можна проводити ферментну реакцію в присутності реактивних парів (кислота, луг, альдегіди) або пилу, які можуть вплинути на активність кон'югатів.
- Лабораторний посуд повинен бути ретельно промитий; рекомендоване застосування матеріалів одноразового використання.
- Перед використанням пластикові ванночки для рідких реагентів обполоснути водою дистильованою. Багаторазові ванночки для автоматичних аналізаторів необхідно відразу після роботи промити водою дистильованою. Потім прополоскати 70% розчином етилового спирту і знову сполоснути водою дистильованою.
- Імуносорбент допускається зберігати в проміжках між окремими операціями не більше 10 хв (не можна допускати висихання лунок планшета).
- Ферментна реакція особливо чутлива до іонів металів. Не можна допускати контакту металевих предметів з розчинами кон'югатів або субстрату.
- Необхідно використовувати чистий наконечник для кожного зразка або реагенту.
- Промивання лунок – важливий етап у даній процедурі: необхідно дотримуватися рекомендовану кількість циклів промивки і переконатися, що лунки повністю заповнюються, не допускати залишку рідини у лунках після промивання. Неправильно проведений етап промивання може привести до неточних результатів.
- Не можна використовувати одну і ту ж ємність для приготування кон'югату та розчинів.
- Необхідно використовувати тільки валідовані піпетки та обладнання.
- Не можна змінювати процедуру проведення аналізу.
- Не можна піддавати реагенти впливу високої температури або прямого сонячного світла.

### IV. ІНСТРУКЦІ З БЕЗПЕКИ.

- Всі реагенти набору призначені для лабораторної діагностики. Потенційний ризик застосування набору - перелік В.
- Сироватки (плазми) крові людини, що використовуються при приготуванні К-, були протестовані і визначені неактивними щодо антитіл класу IgM до капсидного антигену (VCA) вірусу Епштейна-Барр, поверхневого антигену вірусу гепатиту В, антитіл до вірусу гепатиту С та вірусу імунодефіциту людини ВІЛ-1,2
- Сироватки (плазми) крові людини, що використовуються при приготуванні К+, були протестовані і визначені неактивними у відношенні поверхневого антигену вірусу гепатиту В, антитіл до ВІЛ-1,2 і до вірусу гепатиту С.
- У приміщенні з імунодіагностичними матеріалами не можна вживати їжу, пити, палити, застосовувати косметику.
- Не можна піпетувати ротом.
- При роботі з досліджуваними зразками необхідно поводитись як з потенційно небезпечними матеріалами, оскільки жоден відомий метод тестування не може гарантувати відсутність інфекційних агентів.
- При роботі з будь-яким обладнанням, яке контактує з досліджуваними зразками, необхідно поводитись як з потенційно небезпечними матеріалами.
- При роботі з набором реагентів і досліджуваними зразками необхідно використовувати спец. одяг та одноразові рукавички, ретельно промивати руки після роботи з ними.
- Необхідно уникати розплескування зразків або розчинів, що містять зразки. При розплескуванні негайно дезінфікувати поверхню 3% розчином хлораміну Б.
- Необхідно уникати контакту субстратного буфера, ТМБ, стоп-реагенту зі шкірою та слизовими.

- Після проведення ферментної реакції необхідно нейтралізувати та/або автоклаувати розчини, відходи або будь-які рідини, що містять біологічні зразки, до скидання в каналізацію. Тверді відходи (використані планшети, наконечники до дозаторів, флакони, лабораторний посуд, одноразові рукавички і т. д.) повинні бути незаражені зануренням у 6% розчин перекису водню з 0,5% синтетичного миючого засобу або 3% розчин хлораміну Б. тривалість дезактивації – не менше 1 год. Допустимо застосування іншого дозволеного до застосування дез.засобу. Тверді відходи також слід незаражувати автоклауванням протягом години при температурі від 124 до 128 °С під тиском 1,5 кГс/см<sup>2</sup> (0,15 МПа). Рідкі відходи (промивні води) слід незаражувати додаванням сухого хлораміну Б з розрахунку 30 г/л (тривалість дезактивації – не менше 2 год) або кип'ятінням протягом 30 хвилин, або автоклауванням протягом 1 години під тиском 1,5 кГс/см<sup>2</sup> (0,15 МПа) при температурі від 124 до 128 °С. Інструменти та обладнання до і після роботи необхідно протирати 2 рази 70% етиловим спиртом.



Деякі реагенти містять 0,05% проклін 300. Проклін 300 0,05% – подразнююча речовина. Може викликати алергічну реакцію при контакті з шкірою. При контакті зі шкірою промити область контакту великою кількістю мила і води.

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

- Вода дистильована.
- Автоматичні або напіваавтоматичні, регульовані або попередньо встановлені одноканальні чи багатоканальні піпетки із змінним об'ємом для відбору рідин.
- Одноразові наконечники до піпеток.
- Інкубатор мікропланшетний (37,0 ± 0,5) °С.
- Автоматичний мікропланшетний вошер.
- Градуйовані циліндри: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.
- Мікропланшетний рідер з можливістю вимірювання оптичної густини (ОП) при фільтрах 450 нм і 620-680 нм.

## VI. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ.

Для виключення помилкових результатів не можна піддавати досліджувані зразки термоінактивації, необхідно відбирати і зберігати їх в умовах, що запобігають бактеріальному росту. **Кожен зразок сироватки слід відбирати новим наконечником!** Відібрані зразки зберігати не більше 3-х діб при температурі від 2 до 8 °С. Більш тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 20 °С (зразки можуть піддаватися заморожуванню і відтаванню не більше 1 разу). Зразки з вираженим бактеріальним ростом, гемолізом і гіперліпідемією можуть дати неправильний результат. Зразки сироватки (плазми) крові, що містять агрегати або осад, необхідно «освітлювати» центрифугуванням.

## VII. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ.

### 1. Реагенти, готові до застосування:

- **К-** – контрольний негативний зразок;
- **К+** – контрольний позитивний зразок;
- **РРК** – розчин для розведення кон'югату;
- **БР** – блокуючий розчин для розведення досліджуваних зразків;
- **Стоп-реагент.**

### 2. Реагенти, що потребують попереднього приготування

- **Імуносорбент.** Кожен планшет, що складається з 12 стрипів, упакований в фольгований пакет. Розкрити фольгований пакет і вийняти планшет. Взяти необхідну кількість стрипів. Невикористані стрипи без рамки помістити назад у фольгований пакет (не видаляючи силікагель!) і ретельно герметизувати. Для цього помістити розкритий пакет з імуносорбентом в поліетиленовий пакет з замком Zip-Lock або край фольгованого пакету згорнути 2-3 рази і закріпити, надівши зверху скріпку для фольгованого пакета. Після розкриття пакета імуносорбент стабільний протягом 6 міс при температурі від 2 до 8 °С.
- **Робочий промивний розчин (ПР).** Вміст флакону з концентратом (концентрат х 25) промивного розчину ретельно перемішати. Для приготування робочого розчину для промивання необхідний обсяг концентрату промивного розчину розвести відповідним об'ємом води дистильованою або

деіонізованою (див. табл. 2). Отриманий розчин ретельно перемішати. Робочий промивний розчин, підготовлений до використання, зберігати в чистій щільно закритій ємності протягом 14 діб. при температурі від 18 до 24 °С або 28 діб. при температурі від 2 до 8 °С.

- **Робочий розчин кон'югату.** Необхідну кількість РРК перенести в чистий флакон, додати відповідну кількість концентрату кон'югату (концентрат x 21) (див. табл. 2) і обережно перемішати, не допускаючи спінювання (інтенсивне перемішування не застосовувати!). Робочий розчин кон'югату стабільний не більше 12 год в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.
- **Субстратна суміш (СС).** Розвести необхідний обсяг ТМБ відповідним обсягом СБ (див. табл. 2). Ретельно перемішати до повного розчинення. Субстратну суміш готувати перед використанням. Допустиме зберігання СС не більше 10 год в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.

**Субстратна суміш повинна бути безбарвною!**

### 3. Зберігання невикористаних реагентів

Після відкриття флаконів і пакета з імуносорбентом, реагенти що залишилися не використаними: кон'югат (концентрат x 21), позитивний контрольний зразок (К+), негативний контрольний зразок (К-), РРК, БР, ПР (концентрат x 25), СБ, ТМБ, стоп-реагент зберігати у флаконах, закритих гвинтовими кришками, протягом терміну придатності тест-системи при температурі від 2 до 8 °С, імуносорбент після розкриття пакета можна зберігати протягом 6 міс. при температурі від 2 до 8 °С.

## VIII. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

**Примітка:** Перед використанням всі реагенти набору витримати протягом 30 хв при температурі від 18 до 24 °С.

Необхідні обсяги реагентів в залежності від кількості використовуваних стрипів або планшета представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

**Витрата реагентів набору в залежності від кількості використовуваних стрипів**

Кількість використовуваних стрипів	Робочий промивний розчин (ПР)		Робочий розчин кон'югату		СС	
	ПР (конц. x 25) (мл)	Вода дистильована (мл)	Кон'югат (конц. x 21) (мл)	РРК (мл)	СБ (мл)	ТМБ (мл)
1	4	96	0,05	1,0	1,0	0,05
2	8	192	0,10	2,0	2,0	0,10
3	12	288	0,15	3,0	3,0	0,15
4	16	384	0,20	4,0	4,0	0,20
5	20	480	0,25	5,0	5,0	0,25
6	24	576	0,30	6,0	6,0	0,30
7	28	672	0,35	7,0	7,0	0,35
8	32	768	0,40	8,0	8,0	0,40
9	36	864	0,45	9,0	9,0	0,45
10	40	960	0,50	10,0	10,0	0,50
11	44	1056	0,55	11,0	11,0	0,55
12	48	1152	0,60	12,0	12,0	0,60

1. Перед використанням планшет промити 2 рази робочим ПР: обережно внести робочий ПР в лунки планшета за допомогою промивного пристрою до країв лунок (не менше 380 мкл в лунку), витримати 40 с, потім видалити промивний розчин в ємність з дезинфікуючим розчином. Рекомендується використання автоматичного мікропланшетного вошера. Недостатня промивка може несприятливо вплинути на точність аналізу.

2. Контрольні зразки рекомендується вносити за наступною схемою в залежності від кількості використовуваних стрипів:

1 стрип: 1 лунка – 100 мкл К+, 2 лунки по 100 мкл К-;

2 стрипа: 2 лунки по 100 мкл К+, 2 лунки по 100 мкл К-;

3 стрипа і більше: 2 лунки по 100 мкл К+, 3 лунки по 100 мкл К-.

В лунки стрипа, наприклад, А-1 і В-1 внести по 100 мкл К+, в 3 лунки С-1, D-1, Е-1 – по 100 мкл К-. В інші лунки імуносорбенту внести по 90 мкл блок-розчину, потім по 10 мкл зразків досліджуваних сироваток (розведення сироваток 1:10).

3. Вміст лунок ретельно перемішати обережним піпетуванням, при цьому фіолетово-синій колір повинен змінитися на блакитно-зелений. Якщо зміна кольору не відбулася, значить, сироватка не внесена. Стрипи закрити кришкою або захисною плівкою і витримати 30 хв при температурі  $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ .
4. Вміст лунок акуратно видалити в ємність з дезінфікуючим розчином, з допомогою промивного пристрою, планшет промити 4 рази робочим ПР, використовуючи автоматичний мікропланшетний вошер, як зазначено в п. 1.
5. У всі лунки відмитого планшета внести по 100 мкл робочого розчину кон'югату. Планшет закрити кришкою або захисною плівкою і витримати протягом 30 хв при температурі  $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ .
6. Вміст лунок акуратно видалити в ємність з дезінфікуючим розчином, з допомогою промивного пристрою, планшет промити 4 рази робочим ПР, використовуючи автоматичний мікропланшетний вошер, як зазначено в п. 1.
7. У всі лунки відмитого планшета внести по 100 мкл СС і планшет витримати протягом 20 хв в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24  $^\circ\text{C}$ .
8. Реакцію зупинити додаванням у всі лунки планшета по 50 мкл стоп-реагенту і через 3-4 хвилини провести облік результатів при основному фільтрі 450 нм і референс-фільтрі 620-680 нм, використовуючи рідер. Припустимо облік результатів при одній довжині хвилі 450 нм.

#### IX. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ.

Реакцію слід враховувати, якщо середні значення оптичної густини (ОП) в лунках з K+ не нижче 0,6, а середнє значення K - не більше 0,200.

Позитивним вважати зразок зі значенням ОП дорівнює або перевищує ОП критичне (ОП крит).

Негативним вважати зразок зі значенням ОП менш ОП крит.

ОП крит. розраховувати за формулою:

$$\text{ОП крит.} = \text{ср. знач. ОП (K-)} + A \quad (A=0,200),$$

де A – коефіцієнт, що визначається методом статистичної обробки результатів постановки ІФА на підприємстві-виробнику.

#### Інтерпретація результатів

Результати постановки тест-системи оцінюють за допомогою таблиці 3. Проте для більш точної постановки діагнозу необхідно також керуватися клінічними даними.

Таблиця 3

Інтерпретація результатів постановки тест-системи

	Низькоavidні антитіла	VCA-IgG*	VCA-IgM	EA-IgG	NA-IgG
Інкубаційний період чи відсутність інфікування	–	–	–	–	–
Первинна інфекція	+	+	+/-	–	–
Гостра первинна інфекція (інфекційний мононуклеоз)	+	+	+	+	–
Пізня первинна інфекція	–	+	+/- ( $\leq 0,3$ )	+	+/-
Атипова первинна інфекція	–	+	+	–	–
Хронічна інфекція	–	+	+/-	+	–
Рання паст-інфекція (реконвалесценція)	–	+	–	+	+
Пізня паст-інфекція (латентна інфекція у клінічно здорових людей)	–	+	–	–	+
Реактивація	–	+	+	+	+

\* у дітей до 7-8 років IgG до VCA можуть не виявлятися.

**X. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ.**

Термін придатності – 24 місяці. Набір з вичерпаним терміном придатності використанню не підлягає.

Зберігання у сухому, захищеному від світла місці при температурі від 2 до 8 °С.

Транспортування – при температурі від 2 до 8 °С. Допустимо транспортування від 9 до 20 °С не більше 10 діб. Заморожування не допускається.

Рекламації на специфічні і фізичні властивості набору направляти на адресу підприємства-виробника ТОВ «Діагностичні системи Україна», Україна, 04107, м. Київ, вул. Багговутівська, б. 8/10, тел. 044 361 55 76 E-mail: ds-u@ukr.net

**XI. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.**

			Температурні межі зберігання
	Тільки для лабораторного використання (in vitro diagnostic)		Строк придатності рік/місяць/дата
	Номер партії (серії)		Містить подразнюючі речовини
	«Увага»		Не допускати впливу сонячного світла
	Берегти від вологи		Знак відповідності