



## АНТИТІЛА ДО Т-ЛІМФОТРОПНОГО ВІРУСУ ЛЮДИНИ I І II ТИПУ (HTLV I&II), ВЕРСІЯ ULTRA

Кат. №: LUA-EIA.HTLVAB.480  
Кількість тестів: 480

Дата випуску інструкції: 05-2021  
Версія: 4

### Імуноферментний аналіз (ІФА) для визначення антитіл до Т-клітинного Лімфотропного Вірусу людини типу I та II у плазмі та сироватці людини

- тільки для діагностичного використання «in vitro» -

#### А. ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Імуноферментний аналіз (ІФА) для якісного визначення антитіл до Т-клітинного лімфотропного вірусу людини типу I&II або HTLV I&II AT. Набір призначений для скринінгу одиниць крові та спостереження за пацієнтами, інфікованими HTLV I та II. Тільки для діагностики «in vitro».

#### С. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Мікропланшети покриті специфічними синтетичними імунодомінантними антигенами HTLV I&II, похідними від gr46-I, gr46-II та gr21.

Тверду фазу спочатку обробляють зразком і анти-HTLV I&II AT, якщо вони є, захоплюються антигенами, нанесеними на мікропланшет.

Після вимивання всіх інших компонентів зразка у другій інкубації, зв'язані загальні антитіла анти-HTLV I&II виявляють шляхом додавання специфічних синтетичних антигенів, похідних від gr46-I, gr46-II та gr21, мічених пероксидазою (HRP).

Захоплений на твердій фазі фермент, взаємодіючи з сумішшю субстрат/хромоген, генерує оптичний сигнал, який пропорційний кількості антитіл до HTLV I та II, присутніх у зразку. Після блокування ферментативної реакції, оптична щільність вимірюється зчитувачем ІФА.

Версія ULTRA особливо підходить для автоматизованих скринінгів.

#### D. КОМПОНЕНТИ

Набір містить достатньо реагентів для виконання 96 тестів.

##### 1. Мікропланшет MICROPLATE

X1 мікропланшет, 12 смужок по 8 мікролунок. Мікропланшети покриті специфічними синтетичними імунодомінантними антигенами HTLV I&II, похідними від gr46-I, gr46-II та gr21.

Планшети запечатані в пакет з осушувачем. Дайте мікропланшету досягти кімнатної температури перед відкриттям; повторно закрити невикористані стрипи в пакеті з осушувачем і зберігати при температурі +4 °C (°C).

##### 2. Негативний контроль CONTROL -

1x2.0 мл (мл)/флакон. Готовий до використання контроль. Містить 5% BSA, 10 мМ (mM) фосфатного буфера з рН 7.4 ± 0.1, 0.09% азиду натрію 0.045% ProClin 300. Маркування коричневого/жовтого кольору.

##### 3. Позитивний контроль CONTROL +

1x2.0 мл (мл)/флакон. Готовий до використання контроль. Містить 5% BSA, 10 мМ (mM) фосфатного буфера з рН 7.4 ± 0.1, 0.09% азиду натрію, інактивовану людську сироватку, позитивну до HTLV AT, 0.045% ProClin 300. Маркування зеленого кольору.

##### 4. Калібратор CAL...ml

X1 флакон. Ліофілізований калібратор. Містить інактивовані антитіла анти-HTLV I&II, калібровані проти Seracare Accusun 24, 4% BSA, 2% манітолу, 50 мМ (mM) трис-буфера з рН 7.8, 0.2 мг/мл (mg/ml) сульфату гентаміцину та 0.045% ProClin 300.

**Примітка: Об'єм, необхідний для розчинення вмісту флакона, може змінюватися в залежності від партії. Будь ласка, використовуйте правильний об'єм, зазначений на етикетці.**

##### 5. Концентрат Буферу для промивання WASHBUF 20X

1x60 мл (мл)/пляшку. 20-кратний концентрований розчин, що містить 0.045% ProClin 300 як консервант. Після розведення промивний розчин містить 10 мМ (mM) фосфатного буфера з рН 7.0 +/- 0.2 та 0.05% Твін 20.

##### 6. Ферментний кон'югат CONJ

1x16.0 мл (мл)/пляшку. Готовий до застосування розчин. Містить суміш синтетичних антигенів HTLV, мічений HRP, 5% BSA, 10 мМ (mM) трис-буфер з рН 6.8 ± 0.1, 0.3 мг/мл (mg/ml) сульфату

гентаміцину та 0.045% ProClin 300 як консерванти. Маркування рожевого/червоного кольору.

##### 7. Хромоген/Субстрат SUBS TMB

1x16 мл (мл)/пляшку. Готовий до використання компонент. Містить 50 мМ (mM) цитратно-фосфатного буфера з рН 3.5-3.8, 4% диметилсульфоксиду, 0.03% тетраметилбензидину або ТМБ та 0.02% перекису водню або H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Примітка: Зберігати захищеним від світла, чутливий до сильного освітлення.**

##### 8. Сірчана кислота H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.3 M

1x15 мл (мл)/пляшку. Містить 0.3 M (M) розчину H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

##### 9. Покривна фольга для планшета x 2 шт.

##### 10. Інструкція x 1 шт.

#### E. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ

1. Відкалібровані мікродозатори (200 мкл (µl) і 10 мкл (µl)) та одноразові пластикові наконечники.
2. Вода класу ІФА (бідистильована або деіонізована, оброблена деревним вугіллем, для видалення окислювальних хімікатів, що використовуються як дезінфікуючі засоби).
3. Таймер з діапазоном 60 хвилин або вище.
4. Абсорбуючі паперові серветки.
5. Калібрований мікропланшетний термостатичний інкубатор ІФА, здатний забезпечити температуру +37 °C (°C).
6. Калібрований мікропланшетний зчитувач ІФА з фільтрами 450 нм (nm) (зчитування) та 620-630 нм (nm) (бланкування).
7. Калібрований мікропланшетний вошер ІФА.
8. Вортекс або подібні змішувальні інструменти.

#### F. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Набором повинен користуватися лише кваліфікований та належним чином підготовлений технічний персонал під наглядом завідувача лабораторії.
2. Весь персонал, який бере участь у проведенні аналізу, повинен носити захисний лабораторний одяг, рукавички без тальку та окуляри. Слід уникати використання будь-яких гострих (голки) або ріжучих (лез) пристроїв. Весь залучений персонал повинен бути навчений процедурі роботи з інфекційно небезпечними речовинами.
3. Весь персонал, який займається обробкою зразків, повинен бути вакцинований проти ВГВ та ВГА, для яких вакцини доступні, безпечні та ефективні.
4. Лабораторне середовище слід контролювати таким чином, щоб уникнути забруднень, таких як пил або мікроорганізми, що утворюються в повітрі, при відкритті флаконів з наборів та мікропланшетів та при проведенні тесту. Захищати Хромоген (ТМБ) від дії сильного світла та уникати вібрації стола, де проводиться тестування.
5. Після отримання, зберігайте набір при температурі 2...8 °C (°C) у холодильнику з контролем температури або в холодній кімнаті.
6. Не обмінюйте компоненти між різними партіями наборів. Рекомендується, щоб компоненти між двома наборами однієї партії не мінялися місцями.
7. Переконайтеся, що реагенти прозорі та не містять видимих важких частинок або агрегатів. Якщо ні, порекомендуйте керівнику лабораторії розпочати необхідні процедури щодо заміни набору.
8. Уникайте перехресного забруднення між зразками сироватки/плазми, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
9. Уникайте перехресного забруднення між реагентами набору, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
10. Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на зовнішньому контейнері та внутрішніх етикетках (флаконах).
11. Розглядайте всі зразки як потенційно інфекційні.
12. Рекомендується використовувати одноразовий пластиковий посуд для приготування рідких компонентів або для перенесення компонентів на автоматизовані робочі місця, щоб уникнути перехресного забруднення.
13. Відходи, що утворились під час використання набору, слід утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів хімічних та біологічних речовин.

14. Сірчана кислота є подразником. У разі розливу промити поверхню великою кількістю води.
15. Інші відходи, що утворюються внаслідок використання набору (приклад: наконечники, що використовуються для зразків та контролів, використані мікропланшети), слід обробляти як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів.

#### **Ф. ЗРАЗКИ: ПІДГОТОВКА І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ**

1. Кров забирається асептично шляхом венепункції, а плазма або сироватка готуються із застосуванням стандартних методик підготовки зразків для клінічного лабораторного аналізу. Ніякого впливу при приготуванні зразка з цитратом, ЕДТА та гепарином не спостерігалось.
2. Уникайте будь-якого додавання консервантів до зразків; особливо азиду натрію, оскільки ця хімічна речовина впливає на ферментативну активність кон'югату, генеруючи хибнонегативні результати.
3. Зразки повинні бути чітко ідентифіковані кодами або назвами, щоб уникнути неправильного тлумачення результатів.
4. Гемолізовані (червоні) та помітно гіперліпемічні («молочні») зразки слід відкинути, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів. Зразки, що містять залишки фібрину або важких частинок або мікробні нитки та тіла, слід відкидати, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів.
5. Сироватку та плазму можна зберігати при +2-8 °C (°C) у пробірках для первинного забору протягом п'яти днів після забору. Не заморожуйте первинні пробірки для забору. Для більш тривалого періоду зберігання зразки сироватки та плазми можна зберігати замороженими при -20 °C (°C) мінімум 12 місяців. Будь-які заморожені зразки не слід заморожувати/розморожувати більше одного разу, оскільки це може утворити частинки, які можуть вплинути на результат тесту.
6. Якщо наявні частинки, фільтруйте за допомогою фільтрів 0.2-0.8 мкм (µm), щоб очистити зразок для тестування.

#### **Н. ПІДГОТОВКА КОМПОНЕНТІВ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ**

##### **Мікропланшет:**

Перед відкриттям контейнера дайте мікропланшету досягти кімнатної температури (близько 1 години). Переконайтеся, що осушувач не набув темно-зеленого забарвлення, що вказує на дефект виробництва. У цьому випадку зателефонуйте до служби підтримки клієнтів ЛАБЮЕИ. Невикористані стрипи потрібно покласти назад в алюмінієвий пакет, разом з осушувачем, щільно закрити і зберігати при +2-8 °C (°C). При першому відкритті стрипи, що залишились, є стабільними, поки індикатор вологості всередині пакета з осушувачем не перетвориться з жовтого на зелений.

##### **Негативний та Позитивний контроль:**

Готові до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

##### **Калібратор:**

Додайте до ліофілізованого порошку об'єм води класу ІФА, зазначений на етикетці. Дайте повністю розчинитися, а потім обережно перемішайте на вортексі.

**Важлива примітка:** Розчин не є стабільним. Зберігайте Калібратор замороженим в аліквотах при -20 °C (°C).

##### **Концентрат Промивного буфера:**

Перед використанням весь вміст концентрованого розчину слід розбавити бідистильованою водою 20x і обережно перемішати обертанням з денця на кришку. Під час приготування уникайте піноутворення, оскільки наявність бульбашок може спричинити погану ефективність промивання.

**Примітка:** Після розведення промивний розчин стабільний протягом 1 тижня при +2..8 °C (°C).

##### **Ферментний Кон'югат:**

Готовий до використання. Змішайте на вортексі перед використанням. Уникайте забруднення рідини окислювачами, пилом або мікробами. Якщо цей компонент потрібно перенести, використовуйте тільки пластикові, а, за можливості, і стерильні одноразові контейнери.

##### **Хромоген/Субстрат:**

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Будьте обережні, щоб не забруднити рідину окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Не піддавайте сильному освітленню, впливу окислювачів та контакту з металевими поверхнями.

Якщо цей компонент доводиться переносити, використовуйте лише пластикову, та, за можливості, і стерильну одноразову тару.

##### **Сірчана кислота:**

Готова до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

##### **Попереджувальні Н-фрази:**

**H315** - Викликає подразнення шкіри.

**H319** - Викликає серйозне подразнення очей.

##### **Попереджувальні Р-фрази:**

**P280** - Одягати захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя.

**P302+P352** - ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: Змити великою кількістю мила та води.

**P332+P313** - Якщо виникає подразнення шкіри: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P305+P351+P338** - ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промивати водою протягом декількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і це легко зробити. Продовжуйте промивання.

**P337+P313** - Якщо подразнення очей не зникає: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P362+P363** - Зніміть забруднений одяг і виперіть його перед повторним використанням.

#### **І. ПРИЛАДИ ТА ІНСТРУМЕНТИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В КОМБІНАЦІЇ З НАБОРОМ**

1. Мікродозатори повинні бути відкалібровані, щоб забезпечити правильний об'єм, необхідний для аналізу, а також повинне проводитись регулярне знезараження (побутовий спирт, 10% розчин відбілювача, дезінфікуючі засоби медичного призначення) тих частин, які можуть випадково контактувати зі зразком. Їх також слід регулярно обслуговувати, щоб показати точність 1% та прецизійність +/- 2%. Дезактивацію розливів або залишків компонентів комплексу також слід проводити регулярно.
2. Інкубатор ІФА слід встановити на +37 °C (°C) (допускається ±0.5 °C (°C)) і регулярно перевіряти, щоб підтримувати правильну температуру. Для інкубації підходять як сухі інкубатори, так і водяні ванни, за умови, що прилад підтверджений для інкубації тестів ІФА.
3. Вошер ІФА є надзвичайно важливим для загальних показників аналізу. Вошер потрібно заздалегідь ретельно оцінити, перевірити, чи вноситься потрібний об'єм видачі, та регулярно подавати на технічне обслуговування відповідно до інструкцій виробника щодо використання. Зокрема, після закінчення щоденного навантаження вошер слід ретельно очищати від солей деіонізованою водою. Перед використанням вошер слід праймувати розведеним Промивним Розчином. Вошер слід регулярно обслуговувати відповідно до інструкцій виробника.  
5 циклів промивання (аспірація + дозування 350 мкл (µl)/лунку промивного розчину + 20 секунд замочування = 1 цикл) достатньо для забезпечення аналізу із заявленими характеристиками. Якщо замочування неможливо, додайте ще один цикл промивання. Неправильний цикл промивання або голки, забиті сіллю, є основною причиною хибнопозитивних реакцій.
4. Час інкубації має допуск ± 5%.
5. Зчитувач мікропланшетів ІФА повинен бути обладнаний фільтром зчитування 450 нм (nm) та другим фільтром 620-630 нм (nm), обов'язковим для бланкування. Його стандартні характеристики повинні бути (а) пропускна здатність ≤ 10 нм (nm); (b) діапазон поглинання від 0 до ≥ 2.0; (c) лінійність до ≥ 2.0; (d) повторюваність ≥ 1%. Бланкування проводиться на лунці, визначеній у розділі «Процедура аналізу». Оптичну систему зчитувача потрібно регулярно калібрувати, щоб забезпечити правильне вимірювання оптичної щільності. Її слід регулярно обслуговувати відповідно до інструкцій виробника.
6. При використанні автоматизованої станції ІФА всі критичні кроки (внесення, інкубація, промивання, зчитування, обробка даних) повинні бути ретельно встановлені, відкалібровані, контрольовані та регулярно обслуговуватися, щоб відповідати значенням, наведеним у розділах «Перевірка тесту» та «Робочі характеристики». Протокол аналізу повинен бути встановлений в операційній системі пристрою та перевірений як для вошера, так і

для зчитувача. Крім того, частина станції для подачі рідини (дозування та промивання) повинна бути перевірена та правильно встановлена. Особливу увагу потрібно приділити тому, щоб уникнути перенесення голками, що використовуються для дозування та промивання. Це потрібно вивчити та контролювати, щоб мінімізувати можливість забруднення сусідніх лунок через сильно реактивні зразки, що призводить до хибнопозитивних результатів. Використання автоматизованих станцій ІФА рекомендується для скринінгу крові та коли кількість зразків, що підлягають тестуванню, перевищує 20-30 одиниць за пробіг.

7. При використанні автоматичних пристроїв у разі, якщо тримач флакону в приладі не підходить до флаконів, що входять до набору, перенесіть розчин у відповідні контейнери та позначте їх тією самою етикеткою, вилученою з оригінального флакону. Ця операція важлива для того, щоб уникнути невідповідності вмісту флаконів при їх переміщенні. Коли тестування закінчиться, поверніть вторинні марковані контейнери в температуру 2.8 °C (°C), щільно закривши їх.

#### L. КОНТРОЛЬ ТА МАНІПУЛЯЦІЯ ДО ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Перевірте термін придатності набору, надрукований на зовнішній етикетці коробки з набором. Не використовувати, якщо термін придатності минув.
2. Переконайтеся, що рідкі компоненти не забруднені частинками або скупченнями, видимими неозброєним оком. Переконайтеся, що Хромоген/Субстрат безбарвний або блідо-блакитний, аспіруючи невеликий його об'єм стерильною прозорою пластиковою піпеткою. Переконайтеся, що при транспортуванні не сталося поломок і не пролило рідини всередині коробки. Переконайтеся, що алюмінієвий пакет, що містить мікропланшет, не пробитий і не пошкоджений.
3. Розведіть весь вміст 20X концентрату Промивного Розчину, як описано вище.
4. Розчиніть Калібратор як описано вище, і обережно перемішайте.
5. Дайте всім іншим компонентам досягти кімнатної температури (близько 1 години), а потім перемішайте на вортексі всі рідкі компоненти.
6. Встановіть інкубатор ІФА на +37 °C (°C) і підготуйте вошер ІФА, праймуючи його розведеним промивним розчином, відповідно до інструкцій виробника. Встановіть правильну кількість циклів промивання, як повідомляється в конкретному розділі.
7. Увімкніть зчитувач ІФА принаймні за 20 хвилин до зчитування.
8. Якщо ви використовуєте автоматизовану станцію, увімкніть її, перевірте налаштування та обов'язково використовуйте правильний протокол аналізу.
9. Переконайтеся, що мікродозатори встановлені на необхідний об'єм.
10. Перевірте, чи все інше обладнання доступне та готове до використання.
11. У разі виникнення проблем, не продовжуйте подальше тестування та повідомте керівника.

#### M. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Аналіз повинен проводитися відповідно до того, що повідомляється нижче, з обережністю, щоб підтримувати однаковий час інкубації для всіх зразків під час тестування.

##### Автоматизований аналіз:

У разі проведення тесту в автоматичному режимі за допомогою ІФА-аналізатора, рекомендується вносити зразок безпосередньо у відповідну лунку мікропланшета. Перед аспірацією наступного зразка голки необхідно належним чином промити, щоб уникнути перехресного забруднення зразків.

Не розбавляйте контролю/калібратор, оскільки вони готові до використання.

Внесіть контролю/калібратор по 100 мкл (μl) у відповідні контрольні/калібрувальні лунки.

**Важливе зауваження:** Візуально стежте за тим, щоб зразки були внесені у відповідні лунки.

Для наступних операцій дотримуйтесь інструкцій з використання, наведених нижче для ручного аналізу.

Настійно рекомендується перевірити, чи проміжок часу між видачею першого та останнього зразка буде розрахований приладом та врахований, відповідно відклавши першу операцію промивання.

У разі використання автоматичної робочої станції спочатку переконайтеся, що прилад перевірено відповідно до пункту I.6.

#### Ручний аналіз:

1. Помістіть необхідну кількість стрипів у тримач мікролунок. Інші стрипи зберігайте в пакеті з осушувачем при температурі 2.8 °C (°C), герметично закритому. Залиште лунку в позиції A1 порожньою для операції бланкування (Див. також важливу примітку № 5).
2. Внесіть 100 мкл (μl) Негативного Контролю в три лунки, 100 мкл (μl) Калібратора в дві лунки і 100 мкл (μl) Позитивного Контролю в одну лунку у правильно визначеному порядку. Потім внесіть по 100 мкл (μl) кожного зразка. Не розбавляйте Контролі та Калібратор, оскільки вони попередньо розведені, готові до використання! Перевірте наявність зразків у лунках неозброєним оком (є помітна різниця в кольорі між порожніми та повними лунками) або зчитуванням при 450/620 нм (nm) (зразки показують значення ОЩ вище 0.100).

**Важливе зауваження:** Стрипи слід герметизувати клейкою покривною фольгою, що постачається, лише тоді, коли тест проводиться вручну. Не накривайте стрипи, використовуючи автоматичні прилади ІФА.

3. Інкубуйте мікропланшет протягом **45 хвилин при +37 °C (°C)**.
4. Промийте мікропланшет автоматичним вошером, як зазначено у розділі I.3.
5. Піпетуйте 100 мкл (μl) Ферментного Кон'югату у кожну лунку, крім 1-ї лунки для бланкування, і закрийте герметиком. Переконайтеся, що цей компонент червоного кольору внесений у всі лунки, крім A1.

**Важливі примітки:** Будьте обережні, щоб не доторкнутися до внутрішньої поверхні лунки наконечником піпетки, коли вноситься Кон'югат. Можливе забруднення.

6. Інкубуйте мікропланшет протягом **45 хвилин при +37 °C (°C)**.
7. Промийте мікропланшет як у кроці 4.
8. Піпетуйте 100 мкл (μl) суміші ТМБ/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> у кожну лунку, включаючи бланк-лунку. Переконайтеся, що цей блідо-блакитний реагент розлили по лунках. Потім інкубуйте мікропланшет протягом **15 хвилин при кімнатній температурі (18-24 °C (°C))**.

**Важлива примітка:** Не надавайте сильному прямому світлу, оскільки може створюватися високий фон.

9. Піпетуйте 100 мкл (μl) Сірчаної кислоти у всі лунки, використовуючи ту саму послідовність піпетування, що і на етапі 8, щоб зупинити ферментативну реакцію. Додавання кислоти перетворить колір позитивного контролю та позитивних зразків з блакитного на жовтий/коричневий.
10. Виміряйте інтенсивність забарвлення розчину в кожній лунці, як описано в розділі I.5, за допомогою пристрою для зчитування мікропланшетів при 450 нм (nm) (зчитування) та при 620-630 нм (nm) (віднімання фону, обов'язкове), бланкуючи прилад в лунці A1. Операцію бланкування слід виконувати лише для стандартного методу, а не для методу Спеціального Аналізу.

##### Важливі зауваження:

1. Якщо другий фільтр недоступний, перевірте, чи немає відбитків пальців на дні мікролунки, перш ніж зчитати при 450 нм (nm). Відбитки пальців можуть давати хибнопозитивні результати під час зчитування.
2. Зчитування повинно проводитися відразу після додавання Стоп-розчину, і в будь-якому разі не довше, ніж через 20 хвилин після його додавання. Може статися деяке самоокислення хромогену, що призводить до високого фону.
3. Доведено, що шейкування при 350 ± 150 об/хв (rpm) під час інкубації підвищує чутливість аналізу приблизно на 20%.
4. Калібратор (CAL) не впливає на розрахунок граничного значення, а отже, на розрахунок результатів випробувань. Калібратор можна використовувати лише тоді, коли керівництво лабораторії вимагає внутрішнього контролю якості.
5. Спеціальна процедура аналізу, яка не вимагає операції бланкування, може застосовуватися в особливих умовах або за спеціальними запитами клінічних лабораторій, як в ручному, так і в автоматизованому протоколі аналізу. У цій процедурі лунка A1 включається в схему дозування, без застосування операції бланкування колориметричного зчитування. Цей метод не впливає на допустимі значення, встановлені у вимогах Внутрішнього Контролю Якості (розділ O), формулу

розрахунку значення cut-off (розділ P) та експлуатаційні характеристики пристрою.

#### N. СХЕМА АНАЛІЗУ (Стандартний метод та Спеціальна процедура аналізу)

| Метод                             | Операції   |
|-----------------------------------|--|
| Контролі та калібратор            | 100 мкл (µl)   |
| Зразки                            | 100 мкл (µl)   |
| <b>1-а інкубація</b>              | <b>45 хв</b>   |
| Температура                       | +37 °C (°C)  |
| Промивання                        | 5 циклів із 20 хв. замочування АБО<br>6 циклів без замочування |
| Ферментний Кон'югат               | 100 мкл (µl)   |
| <b>2-а інкубація</b>              | <b>45 хв</b>   |
| Температура                       | +37 °C (°C)  |
| Промивання                        | 5 циклів із 20 хв. замочування АБО<br>6 циклів без замочування |
| ТМВ/Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> | 100 мкл (µl)   |
| <b>3-я інкубація</b>              | <b>15 хв</b>   |
| Температура                       | КТ   |
| Сірчана кислота                   | 100 мкл (µl)   |
| Зчитування ОЩ                     | 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)                                    |

Нижче наведено приклад схеми розподілу (Стандартний метод):

#### Мікропланшет

|   | 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 |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |

Позначення: BLK = Бланк NC = Негативний Контроль CAL = Калібратор PC = Позитивний Контроль S = Зразок

Нижче наведено приклад схеми розподілу (Спеціальна процедура аналізу, без операції бланкування):

|   | 1   | 2   | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | NC  | S3  |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| B | NC  | S4  |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| C | NC  | S5  |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| D | CAL | S6  |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| E | CAL | S7  |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| F | PC  | S8  |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| G | S1  | S9  |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| H | S2  | S10 |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |

#### O. ВНУТРІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

У будь-який час, коли використовується набір, проводиться перевірка контролів та калібратора, щоб визначити, чи відповідають їх значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) очікуваним, та наведені в таблиці нижче.

| Параметр                              | Вимоги                                     |
|---------------------------------------|--|
| Бланк-лунка (для Стандартного методу) | < 0.100 Значення ОЩ 450 нм (nm)            |
| Негативний Контроль (NC)              | < 0.150 середнього значення ОЩ 450 нм (nm) |
| Калібратор (CAL)                      | S/Co ≥ 1.5                                 |
| Позитивний контроль (PC)              | > 0.1000 значення ОЩ 450 нм (nm)           |

Якщо результати тесту відповідають вимогам, зазначеним вище, перейдіть до наступного розділу.

Якщо це не так, не продовжуйте і виконайте наступні перевірки:

| Проблема  | Перевірити   |
|---|--|
| <b>Бланк-лунка</b> > 0.100 ОЩ 450 нм (nm)                       | 1. що під час аналізу розчин Хромоген/Субстрат не забруднився.   |
| <b>Негативний контроль (NC)</b> > 0.150 значення ОЩ 450 нм (nm) | 1. що процедура промивання та налаштування вошера підтвержені у передкваліфікаційній підготовці;<br>2. що був використаний належний миючий |

|  |  |
|--|--|
| після бланкування                                  | розчин і перед використанням вошер був ним праймований;  |
| Коефіцієнт варіації > 30%                          | 3. що в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки (внесення позитивного контролю замість негативного контролю);<br>4. що не відбулося жодного забруднення негативного контролю або лунок, де проводився контроль, через позитивні зразки, розливи або ферментний кон'югат;<br>5. що мікродозатори не були забруднені позитивними зразками або ферментним кон'югатом;<br>6. що голки вошера не були заблоковані або частково перекриті. |
| <b>Калібратор</b> S/Co < 1.5                       | 1. що процедура була правильно виконана;<br>2. що жодна помилка не сталася під час внесення (наприклад, внесення негативного контролю замість калібратора);<br>3. що процедура промивання та налаштування вошера підтвержені у передкваліфікаційній підготовці;<br>4. що не відбулося зовнішнє забруднення калібратора.  |
| <b>Позитивний контроль</b> < 0.1000 ОЩ 450 нм (nm) | 1. що процедура була правильно виконана;<br>2. що жодна помилка не сталася під час внесення контролю (наприклад, внесення негативного контролю замість позитивного контролю);<br>3. що процедура промивання та налаштування вошера підтвержені у передкваліфікаційній підготовці;<br>4. що не відбулося зовнішнє забруднення позитивного контролю.   |

Якщо виникла якась із зазначених вище проблем, повідомте про проблему керівнику для подальших дій.

#### Важлива примітка:

Аналіз слід проводити, як і крок читання, описаний у розділі M, пункт 10.

#### P. РОЗРАХУНОК CUT-OFF

Результати випробувань розраховуються за допомогою середнього значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) Негативного Контролю (NC) та математичного розрахунку, щоб визначити таку формулу для cut-off:

$$NC + 0.200 = \text{Cut-off (Co)}$$

Значення, знайдене для тесту, використовується для інтерпретації результатів, як описано в наступному параграфі.

**Важливе зауваження:** Коли обчислення результатів здійснюється за допомогою оперативної системи автоматизованої робочої станції ІФА, переконайтеся, що для обчислення граничної величини cut-off та отримання правильних інтерпретацій результатів використовується правильна формула.

#### Q. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати випробувань інтерпретуються як співвідношення значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) зразка та значення Cut-off (або S/Co), згідно з наступною таблицею.

| S/Co      | Інтерпретація |
|-----------|---------------|
| < 0.9     | Негативний    |
| 0.9 - 1.1 | Сумнівний     |
| > 1.1     | Позитивний    |

**Негативний** результат вказує на те, що пацієнт не був інфікований HTLV I&II або що одиниці крові можуть бути застосовані для переливання.

Будь-якого пацієнта, який має **сумнівний** результат, слід повторно обстежити, дослідивши другий зразок, відібраний у пацієнта через 1-2 тижні після першого тестування. Одиницю крові не переливати.

**Позитивний** результат свідчить про інфекцію HTLV I&II, і тому пацієнта слід лікувати відповідним чином або викинути одиниці крові.

**Важливі примітки:**

1. Інтерпретація результатів повинна здійснюватися під наглядом завідуючого лабораторією, щоб зменшити ризик помилок та неправильного тлумачення.
2. Будь-який позитивний результат повинен бути підтверджений альтернативним методом, здатним виявити антитіла проти HTLV (RIBA або подібний), і, можливо, за допомогою аналізу молекулярної біології, перш ніж буде поставлений діагноз HTLV-інфекції.
3. Коли результати тесту передаються з лабораторії до іншого закладу, слід звернути увагу, щоб уникнути помилкової передачі даних.
4. Діагноз інфекції HTLV I&II повинен бути наданий пацієнту відповідним кваліфікованим лікарем.

Приклад розрахунку наведено нижче:

Наведені нижче дані не можна використовувати замість реальних цифр, отриманих користувачем.

Негативний контроль: 0.079 - 0.080 - 0.081 ОЩ 450 нм (nm)  
Середнє значення: 0.080 ОЩ 450 нм (nm)  
Нижче ніж 0.150 - Прийнято

Позитивний контроль: 2.589-2.591 ОЩ 450 нм (nm)

Середнє значення: 2.590 ОЩ 450 нм (nm)  
Вище ніж 1.000 - Прийнято  
Cut-off = 0.080+0.200 = 0.280

Калібратор: 1.030 – 1.036 ОЩ 450 нм (nm)  
Середнє значення: 1.033 ОЩ 450 нм (nm) S/Co = 3.7  
S/Co вище 1.5 - Прийнято

Зразок 1: 0.070 ОЩ 450 нм (nm)

Зразок 2: 1.690 ОЩ 450 нм (nm)

Зразок 1 S/Co < 0.9 = негативний

Зразок 2 S/Co > 1.1 = позитивний

**R. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Оцінка ефективності була проведена відповідно до того, що повідомляється у Загальних технічних специфікаціях або CTS:2009.

**1. АНАЛІТИЧНА ЧУТЛИВІСТЬ**

Межа виявлення аналізу була розрахована за допомогою препарату Accurin 24, лот № 118956 виробництва компанії Seracare Life Sciences, США.

У таблиці нижче подано результати, отримані для цього матеріалу з трьома лотами продуктів (P1, P2 і P3).

Accurin 24 розбавляли у негативній сироватці HTLV Ab і досліджували у 4 повторях.

**Accurin 24**

Крім того, для виявлення чутливості набору також використовувався препарат Accurin № 136, що поставляється компанією Boston Biomedica Inc., США. Препарат досліджували на трьох лотах у 4-х повторях. Результати, виражені як значення S/Co, наведені в таблиці нижче:

| Розведення | P1             | P2             | P3             |
|------------|----------------|----------------|----------------|
|            | ОЩ 450 нм (nm) | ОЩ 450 нм (nm) | ОЩ 450 нм (nm) |
| 4X         | <b>2.981</b>   | <b>2.957</b>   | <b>3.455</b>   |
| 8X         | <b>1.964</b>   | <b>1.856</b>   | <b>1.992</b>   |
| 16X        | <b>0.935</b>   | <b>0.820</b>   | <b>0.971</b>   |
| 32X        | <b>0.551</b>   | <b>0.453</b>   | <b>0.562</b>   |
| 64X        | <b>0.318</b>   | <b>0.357</b>   | <b>0.434</b>   |
| 128X       | 0.201          | 0.195          | 0.251          |
| Розчинник  | 0.040          | 0.059          | 0.055          |

Набір демонструє аналітичну чутливість краще, ніж референсний набір попереднього покоління.

**2. ДІАГНОСТИЧНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ТА ЧУТЛИВІСТЬ**

Оцінка Продуктивності набору була проведена у випробуванні, проведеному на більш ніж 5000 зразків відповідно до вимог CTS:2009. Внутрішньо деякі інші випробування були проведені на комерційно доступних панелях з охарактеризованими позитивними зразками.

**2.1 Діагностична Специфічність**

Визначається як ймовірність отримання негативного результату тесту за відсутності конкретного аналіту. На додаток до першого дослідження, де було досліджено загалом понад 5000 зразків, включаючи неселективних донорів, госпіталізованих пацієнтів та потенційно перехресно реагуючих зразків, які відповідали вимогам CTS:2009, нещодавно була проведена оцінка діагностичної специфічності шляхом тестування 3354 негативних зразків на п'яти різних лотах. Було отримано значення специфічності 100%.

Як плазма, отримана за допомогою різних стандартних методик приготування (цитрат, EDTA та гепарин), так і сироватки були протестовані, щоб переконатися у відсутності інтерференції, пов'язаної з підготовкою зразків.

Заморожені зразки також були протестовані для перевірки на наявність інтерференцій через збір та зберігання.

Жодної хибної реакційної здатності через метод приготування зразків не спостерігалось.

**2.2 Діагностична Чутливість**

Вона визначається як ймовірність отримання позитивного результату за наявності специфічного аналіту.

Діагностична чутливість була оцінена під час внутрішньої оцінки ефективності на загальній кількості понад 470 зразків, отриманих як при інфікуванні HTLV I (n=348), так і при інфікуванні HTLV II (n=125).

Діагностична чутливість була додатково оцінена на:

- Панелі, код PRP 207/M, наданій BVI, США;
- Двох панелях європейського походження виробництва EFS, Франція, на основі зразків європейського походження;
- NIBSC UK – Моніторинговий зразок для анти-HTLV-I, Лот 03/104-009;

порівняно з набором виробництва Murex (значення наведені у брошурі до панелі або протестовані внутрішньо з використанням набору Murex).

Зразки оцінювали у двох примірниках (n = 2).

Виявлено діагностичну чутливість 100%.

Результати, отримані на панелях, представлені наступним чином:

**Панель BVI, код PRP 207/M**

| № Зразка | Результат | Набір S/Co | Murex S/Co |
|----------|-----------|------------|------------|
| 1        | +         | 15.1       | 11.8       |
| 2        | +         | 8.0        | 11.6       |
| 3        | +         | 13.3       | 11.6       |
| 4        | +         | 17.4       | 11.8       |
| 5        | +         | 17.4       | 11.6       |
| 6        | /         | /          | /          |
| 7        | +         | 17.4       | 11.6       |
| 8        | +         | 17.4       | 11.6       |
| 9        | +         | 17.4       | 11.6       |
| 10       | +         | 17.0       | 11.6       |
| 11       | +         | 10.4       | 11.8       |
| 12       | +         | 17.4       | 11.6       |
| 13       | +         | 17.4       | 11.6       |
| 14       | +         | 17.4       | 11.6       |
| 15       | -         | 0.5        | 0.2        |

**EFS - Панель Ас HTLV, лот № 07.140625**

| № Зразка      | Набір S/Co | Murex S/Co |
|---------------|------------|------------|
| 1             | 1.5        | 4.2        |
| 2             | 7.6        | 6.9        |
| 3             | 4.7        | 8.6        |
| 4             | 4.0        | 8.1        |
| 5             | 2.5        | 4.5        |
| 6 (Розчинник) | 0.2        | 0.2        |

**EFS - Панель Ас HTLV, лот № 05/08.2012.22С**

| № Зразка | Набір S/Co | Murex S/Co | Типування       |
|----------|------------|------------|-----------------|
| 1        | 3.4        | 10.1       | p19I/p24/gp46I  |
| 2        | 12.2       | 13.3       | p19I/gp46I/gp21 |
| 3        | 10.6       | 9.4        | gp46I           |
| 4        | 11.1       | 9.6        | gp46II          |

## NIBSC - Лот 03/104-009

| P1   | P2   | P3   | Murex |
|------|------|------|-------|
| S/Co | S/Co | S/Co | S/Co  |
| 1.8  | 1.3  | 1.9  | 2.1   |

### 3. ТОЧНІСТЬ

Негативний Контроль (NC), Калібратор (CAL) та Позитивний Контроль (PC) набору тричі перевіряли в 16 повторах (всього n=48) на трьох різних лотах продукту.

Обчислювали коефіцієнти варіації (% CV) в та між аналізами.

З отриманих значень ОЩ 450 нм (nm) були отримані такі середні значення:

|                       | NC    | CAL   | PC    |
|-----------------------|-------|-------|-------|
| ОЩ 450 нм (nm)        | 0.095 | 1.135 | 2.495 |
| СТАНДАРТНЕ ВІДХИЛЕННЯ | 0.010 | 0.070 | 0.074 |
| %CV                   | 9.6   | 6.2   | 3.0   |

Змінність, наведена в таблиці, не призводить до неправильного тлумачення, зокрема, зразка, закритого до діагностичного порогу аналізу.

#### **Важлива примітка:**

Дані про продуктивність були отримані відповідно до кроку зчитування, описаному в розділі М, пункт 10.

### 5. ОБМЕЖЕННЯ

Повторювані хибнопозитивні результати, не підтверджені методом Western Blot або подібними методами підтвердження, були оцінені як менше 0.1% нормальної популяції.

Заморожені зразки, що містять частинки або агрегати фібрину після розморожування, як було помічено, дають деякі хибні результати.

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю, схваленої Уповноваженим органом з оцінки відповідності. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови відповідності технічним регламентам та критеріям прийнятності.



#### **ВИРОБНИК:**

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»

вул. Петлюри, будинок 25,

м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

Тел.: +38 (67) 000-20-22

Електронна адреса: [info@labua.com.ua](mailto:info@labua.com.ua)



UA.TR.116