

НАБІР ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ IgM ДО ВІРУСУ КОРУ

Measles virus IgM

Кат. №: **MEAM.CE**

Дата випуску інструкції: **2020/01**
Версія: **3**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Імуноферментний аналіз (ІФА) для якісного визначення антитіл IgM до вірусу кору у сироватці та плазмі людини

- тільки для діагностичного використання «in vitro» -

А. ПРИЗНАЧЕННЯ

Імуноферментний аналіз (ІФА) для якісного визначення антитіл IgM до вірусу кору в плазмі та сироватці людини. Продукт призначений здебільшого для ідентифікації збудника у пацієнтів, які перенесли екзантематичну інфекцію. Тільки для діагностики in vitro.

В. ВСТУП

Кір, також відомий як **краснуха**, є захворюванням, яке викликане вірусом, зокрема параміксовірусом роду *Morbillivirus*.

Кір передається через дихання і дуже заразний. 90% людей без імунітету, які живуть разом із інфікованою людиною, підхоплять її. При всіх підозрах на кір слід вживати заходів безпеки, пов'язаних із повітряно-крапельним шляхом.

Інкубаційний період зазвичай триває 4-12 днів, протягом яких немає ніяких симптомів. Інфіковані люди залишаються заразними від появи перших симптомів до 3-5 днів після появи висипу.

Приблизно за останні 150 років від кору загинуло близько 200 мільйонів людей у всьому світі. Запровадження вакцинації проти кору докорінно знизило захворюваність дітей та пов'язаних із ними дорослих.

В останні роки впровадження ІФА-наборів для антитіл IgM дало можливість ідентифікувати збудник, що вражає пацієнта на ранній стадії інфекції.

С. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Мікропланшети покриті нативними антигенами вірусу кору, отриманими з культури тканин вірулентного штаму.

Під час 1-ї інкубації тверду фазу обробляють розведеними зразками, і IgM проти вірусу кору захоплюються антигенами, якщо вони присутні.

Після вимивання всіх інших компонентів зразка, у 2-й інкубації зв'язані антивірусні IgM до вірусу кору виявляються шляхом додавання антитіла до hIgG, міченого пероксидазою (HRP).

Фермент, захоплений на твердій фазі, діючи на суміш субстрат/хромоген, генерує оптичний сигнал, який пропорційний кількості антитіл IgM проти вірусу кору, присутніх у зразку.

Нейтралізація IgG проти кору, що проводиться безпосередньо в лунці, виконується в аналізі, щоб блокувати перешкоди, викликані цим класом антитіл, при визначенні IgM.

Д. КОМПОНЕНТИ

Кожен набір містить достатньо реагентів для проведення 96 тестів.

1. Мікропланшет MICROPLATE

12 смужок x 8 розривних лунок, покритих специфічними антигенами вірусу кору. Планшети запаковані в пакет з осушувачем. Перед відкриттям дайте мікропланшету нагрітися до кімнатної температури; повторно закрийте невикористані смужки в пакеті з осушувачем і зберігайте при 4°C (°C).

2. Негативний контроль: CONTROL -

1x4.0 мл/флакон (ml/vial). Готовий до використання. Кодований блідо-жовтим кольором. Містить розведену сироватку людини, негативну на IgM проти вірусу кору, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6,0 +/-0,1, 0,1% Твін 20, 0,09% Na-азид і 0,045% ProClin 300 в якості консервантів.

3. Позитивний контроль: CONTROL +

1x4,0 мл/флакон (ml/vial). Готовий до використання. Кодування зеленим кольором. Містить розведену сироватку людини, позитивну на IgM проти вірусу кору, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6,0 +/-0,1, 0,1% Твін 20, 0,09% Na-азид і 0,045% ProClin 300 як консерванти.

4. Концентрат буферу для промивання: WASHBUF 20X

1x60 мл/пляшку (ml/bottle) 20-кратного концентрованого розчину. Після розведення промивний розчин містить 10 мМ (mM) фосфатного буферу pH 7.0 +/-0.2, 0.05% Твін 20 і 0.045% ProClin 300.

5. Ферментний кон'югат: CONJ

1x16 мл/флакон (ml/vial). Готовий до використання та маркований червоним кольором. Містить кон'юговані з пероксидазою хрому поліклональні антитіла до IgM людини, 5% BSA, 10 мМ (mM) трис-буфер pH 6.8 +/-0.1, 0.045% ProClin 300 і 0.02% гентаміцин сульфат як консерванти.

6. Хромоген/Субстрат: SUBS TMB

1x16 мл/флакон (ml/vial). Містить 50 мМ (mM) цитратно-фосфатний буферний розчин pH 3.5-3.8, 4% диметилсульфоксид, 0.03% тетраметилбензидин (або ТМБ) і 0.02% перекис водню (або H₂O₂).

Примітка: Зберігати в захищеному від світла місці, оскільки чутливий до сильного освітлення.

7. Сірчана кислота: H₂SO₄ 0.3 M

1x15 мл/пляшка (ml/vial). Містить 0.3 M розчину H₂SO₄. Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

8. Розчинник для зразка: DILSPE

2x60 мл/флакон. Готовий до використання та позначений синім кольором. Містить 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6.0 +/-0.1, 0.2% Твін 20, 0.09% Na-азид і 0.045% ProClin 300 як консерванти. Використовується для розведення зразка.

9. Нейтралізуючий реагент: SOLN NEUT20

1x8 мл/флакон (ml/vial). Містить козячий анти hIgG, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6,0 +/-0,1, 0,1% Tween 20, 0,09% Na-азид і 0,045% ProClin 300 як консерванти.

10. Ущільнювальна фольга для планшети 2 шт.

11. Вкладиш інструкції 1 шт.

Е. МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ

- Калібровані мікропіпетки (1000, 100 та 10 мкл (µl) та одноразові пластикові наконечники.
- Вода класу EIA (подвійної дистиляції або деіонізації, оброблена деревним вугіллем, для видалення окислювальних хімікатів, що використовуються як дезінфікуючі засоби).
- Таймер з діапазоном 60 хвилин або вище.
- Абсорбуючі паперові серветки.
- Калібрований мікропланшетний термостатичний інкубатор ІФА (сухий або вологий), здатний забезпечити температуру +37 °C (°C) (допуск +/-0.5°C (°C)).
- Калібрований мікропланшетний зчитувач ІФА з фільтрами 450 нм (nm) (зчитування) та з 620-630 нм (nm) (бланкування).
- Калібрований мікропланшетний вошер ІФА.
- Вортекс або подібні змішувальні інструменти.

Ф. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Набором повинен користуватися лише кваліфікований та належним чином підготовлений технічний персонал під наглядом лікаря, відповідального за лабораторію.
- 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 процедурам біобезпеки, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, а також повідомляється в публікації Національного інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
- Весь персонал, який займається обробкою зразків, повинен бути вакцинований проти ВГВ та ВГА, для яких вакцини доступні, безпечні та ефективні.
- 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. Не надавайте Хромоген (ТМБ) дії сильного світла та уникайте вібрації поверхні стенду, де проводиться випробування.

- Після отримання, зберігайте набір при температурі 2...8 °C (°C) у холодильнику з контролем температури або в холодній кімнаті.
- Не обмінюйте компоненти між різними партіями наборів. Рекомендується, щоб компоненти між двома наборами однієї партії не мінялися місцями.
- Переконайтеся, що реагенти прозорі та не містять видимих важких частинок або скупчень. Якщо ні, порекомендуйте керівнику лабораторії розпочати необхідні процедури щодо заміни набору.
- Уникайте перехресного забруднення між зразками сироватки/плазми, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
- Уникайте перехресного забруднення між реагентами, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх між використанням кожного з них. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
- Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на зовнішньому контейнері та внутрішніх етикетках (флаконах). Дослідження, проведене на відкритому наборі, не вказало на будь-яку істотну втрату активності до шести 6 використання пристрою та до 3 місяців.
- Ставтеся до всіх зразків як до потенційно інфекційних. З усіма зразками сироватки людини слід поводитися на рівні біобезпеки 2, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, відповідно до того, що повідомляється у публікації Інституту охорони здоров'я: «Біобезпека мікробіологічних та біомедичних лабораторій», вид. 1984 р.
- Використовувати одноразовий пластиковий посуд рекомендується для приготування рідких компонентів або для перенесення компонентів на автоматизовані робочі місця, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Відходи, що утворилися під час використання набору, слід утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів хімічних та біологічних речовин. Зокрема, рідкі відходи, що утворюються внаслідок процедури промивання, залишків контролів та зразків, повинні бути оброблені як потенційно інфекційний матеріал та інактивовані перед утилізацією. Запропоновані процедури інактивації - це обробка 10% кінцевою концентрацією побутового відбілювача протягом 16-18 годин або інактивація теплом автоклавом при 121 °C (°C) протягом 20 хв (min).
- Випадкові розливи зразків та під час роботи повинні бути адсорбовані паперовими рушниками, змоченими побутовим відбілювачем, а потім водою. Потім рушники слід утилізувати у належні контейнери, призначені для лабораторних/лікарняних відходів.
- Сірчана кислота є подразником. У разі розливу промити поверхню великою кількістю води.
- 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.

G. ЗРАЗКИ: ПІДГОТОВКА І РЕКОМЕНДАЦІЇ

- Кров забирається асептично шляхом венепункції, а плазма або сироватка готуються із застосуванням стандартних методик підготовки зразків для клінічного лабораторного аналізу. Впливу на приготування зразка з цитратом, ЕДТА та гепарином не спостерігалось.
- Зразки повинні бути чітко ідентифіковані кодами або назвами, щоб уникнути неправильного тлумачення результатів. Коли набір використовується для скринінгу одиниць крові, настійно рекомендується маркування зі штрих-кодом та електронне читування.
- Гемолізовані («червоні») та явно гіперліпемічні («молочні») зразки слід утилізувати, оскільки вони можуть дати помилкові результати. Зразки, що містять залишки фібрину або важкі частинки або мікробні нитки та тіла, слід утилізувати, оскільки вони можуть привести до помилкових результатів.
- Сироватку та плазму можна зберігати при + 2 ° ... + 8 °C (°C) у пробірках для первинного збору протягом п'яти днів після збору. Не заморожуйте первинні пробірки для збору. Для більш тривалого періоду зберігання зразки сироватки та плазми, обережно виїняті з первинної пробірки, можна зберігати замороженими при -20 °C

(°C) принаймні 12 місяців. Будь-які заморожені зразки не слід заморожувати/розморозувати більше одного разу, оскільки це може утворити частинки, які можуть вплинути на результат тесту.

- Якщо присутні частинки, центрифугуйте при 2.000 об./хв. (rpm) протягом 20 хв. (min) або краще, фільтруйте за допомогою фільтрів 0.2-0.8µ для очищення зразка перед тестуванням.

H. ПІДГОТОВКА КОМПОНЕНТІВ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Мікропланшет:

Перед відкриттям контейнера дайте мікропланшету нагрітись до кімнатної температури (приблизно 1 год). Перевірте, щоб осушувач не став темно-зеленим, що вказує на дефект консервації. У такому випадку зателефонуйте в службу підтримки клієнтів Dia.Pro.

Невикористані смужки потрібно покласти назад в алюмінієвий мішечок з осушувачем, щільно застебнути на блискавку і зберігати при +2°-8°C (°C). При першому відкритті невикористані смужки стабільні, доки індикатор вологості всередині пакета з осушувачем не зміниться з жовтого на зелений.

Контролі:

Готові до використання. Перед використанням добре перемішайте.

Концентрат Промивного буфера:

Перед використанням 20X концентрований розчин слід розбавити подвійно дистильованою водою і обережно перемішати обертанням з денця на кришку. Під час приготування уникайте спінювання, оскільки наявність бульбашок може вплинути на ефективність циклів миття.

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

Ферментний Кон'югат:

Готовий до використання. Добре перемішайте на вортексі перед використанням.

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

Якщо цей компонент потрібно перенести, використовуйте лише пластикові, можливо 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 надавайте сильному освітленню, окислювачам та контакту з металевими поверхнями.

Якщо цей компонент доводиться переносити, використовуйте лише пластикову, доступну стерильну одноразову тару.

Розчинник для зразків:

Готовий до використання компонент. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Нейтралізуючий реагент

Готовий до використання. Перед використанням обережно перемішайте.

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).

Легенда:

Попереджувальні **H-фрази:**

H315 - Викликає подразнення шкіри.

H319 - Викликає сильне подразнення очей.

Попереджувальні **P-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.

I. ПРИЛАДИ ТА ІНСТРУМЕНТИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В КОМБІНАЦІЇ З НАБОРОМ

1. Мікропіпетки повинні бути відкалібровані, щоб забезпечити правильний об'єм, необхідний для аналізу, а також проводити регулярне знезараження (побутовий спирт, 10% розчин відбілювача, дезінфікуючі засоби медичного призначення) тих частин, які можуть випадково потрапити на зразок. Їх також слід регулярно обслуговувати, щоб показати точність 1% та правдивість +/- 2%. Також слід регулярно проводити дезактивацію розливів або залишків компонентів набору.
2. Інкубатор ІФА слід встановити на +37 °C (°C) (допуск +/- 0.5 °C (°C)) і регулярно перевіряти, щоб підтримувати правильну температуру. Для інкубацій підходять як сухі інкубатори, так і водняні 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. Прилад слід щотижня подавати на дезактивацію згідно з його керівництвом (пропонується дезактивація 0.1 M NaOH). 5 циклів промивання (аспірація + дозування 350 мкл/лунку (µl/well) 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 помилково позитивних 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 стандартними характеристиками повинні бути (a) 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 підтримувати відповідно до інструкцій виробника.
6. При використанні автоматизованої робочої 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 розділі О «Внутрішній контроль якості». 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, щоб уникнути перенесення голками, що використовуються для дозування та промивання. Це потрібно вивчити та контролювати, щоб мінімізувати можливість забруднення сусідніх лунок. Рекомендується використовувати автоматизовані робочі станції ІФА, коли кількість досліджуваних зразків перевищує 20-30 одиниць за один запуск.
7. Служба підтримки клієнтів Dia.Pro пропонує підтримку користувачеві в налаштуванні та перевірці приладів, що використовуються в поєднанні з набором, з метою забезпечення відповідності описаним вимогам. Також надається підтримка для встановлення нових інструментів, які будуть використовуватися з набором.

L. КОНТРОЛЬ ТА МАНІПУЛЯЦІЇ 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.
3. Переконайтеся, що Хромоген (ТМБ) безбарвний або блідо-блакитний, аспіруючи невеликий його об'єм стерильною прозорою пластиковою піпеткою.
4. Переконайтеся, що при транспортуванні не сталося поломок і не пролито рідини всередині коробки. Переконайтеся, що алюмінієвий мішок, що містить мікропланшет, не пробитий і не пошкоджений.

5. Розведіть весь вміст Контрольної Сироватки, як описано вище.
6. Розведіть увесь вміст 20-кратного концентрованого Розчину для промивання як описано вище.
7. Дайте всім іншим компонентам досягти кімнатної температури (приблизно 1 год), а потім обережно перемішайте на вортексі всі рідкі реагенти.
8. Встановіть ІФА інкубатор на +37°C (°C) і підготуйте вошер ІФА, праймуючи розведеним промивним розчином, згідно з інструкціями виробника. Установіть потрібну кількість циклів промивання, як зазначено в спеціальному розділі.
9. Перевірте, що ІФА зчитувач увімкнено або переконайтеся, що він увімкнений принаймні за 20 хвилин до зчитування.
10. Якщо використовується автоматизована робоча станція, увімкніть, перевірте налаштування та переконайтеся, що ви використовуєте правильний протокол аналізу.
11. Переконайтеся, що мікропіпетки встановлені на необхідний об'єм.
12. Перевірте, чи все інше обладнання доступне та готове до використання.
13. У разі проблем не продовжуйте подальше тестування та повідомте керівнику.

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.

Набір також можна використовувати для якісного та напівкількісного визначення.

1. Розведіть зразки 1:101 у відповідних пробірках для розчину (приклад: 1000 мкл (µl) Розчинника для Зразка + 10 мкл (µl) зразка). Не розбавляйте Контролі, оскільки вони готові до використання. Ретельно перемішайте всі рідкі компоненти на вортексі, а потім дійте, як описано нижче.
2. Помістіть необхідну кількість Мікролунок у тримач. Лунку A1 залишіть порожньою для бланкування.
3. Додайте 50 мкл (µl) Нейтралізуючого Реагенту у всі лунки, окрім A1, що використовується для бланкування та у всі лунки, що використовуються для Контролів.
4. Потім додайте 100 мкл (µl) Негативного Контролю у трьох примірниках та 100 мкл (µl) Позитивного Контролю у двох примірниках. Потім внесіть 100 мкл (µl) розведених зразків у кожную правильно ідентифіковану лунку.
5. Інкубуйте мікропланшет **протягом 60 хв при +37°C (°C)**.

Важлива примітка: смужки повинні бути заклеєні клейкою плівкою, що входить до набору, тільки тоді, коли тест виконується вручну. Не накривайте смужки під час використання автоматичних інструментів ІФА.

6. Промийте мікропланшет автоматичним вошером, як повідомлялося раніше (розділ I.3).
7. Внесіть піпеткою 100 мкл (µl) Ферментного кон'югату в кожную лунку, за винятком A1 бланк-лунки, і накрийте герметичною плівкою. Переконайтеся, що цей компонент червоного кольору був поданий у всі лунки, окрім A1.

Важлива примітка: Будьте обережні, щоб не торкнутися внутрішньої поверхні лунки кінчиком піпетки під час видачі ферментного кон'югату. Може відбутися забруднення.

8. Інкубувати мікропланшет **протягом 60 хв при +37°C (°C)**.
9. Помити мікролунки як на етапі 6.
10. Внесіть піпеткою по 100 мкл (µl) суміші хромоген/субстрат у кожную лунку, включно з бланк-лункою. Потім інкубуйте мікропланшет **при кімнатній температурі (18-24°C (°C)) протягом 20 хвилин**.

Важлива примітка: Не піддавайте сильному прямому освітленню. Може утворитися високий фон.

11. Внесіть піпеткою 100 мкл (µl) Сірчаної кислоти у всі лунки, використовуючи ту ж послідовність піпетування, що й на етапі 9. Додавання кислоти перетворить позитивні калібратори, контрольну сироватку і позитивні зразки з блакитного на жовтий.
12. Виміряйте інтенсивність кольору розчину в кожній лунці, як описано в розділі I.5, на фільтрі 450 нм (nm) (зчитування) і при 620-630 нм (nm) (віднімання фону, обов'язкове), бланкуючи інструмент на A1.

Загальні зауваження:

1. Переконайтеся, що на нижній частині мікролунок немає відбитків пальців перед зчитуванням. Це може призвести до хибнопозитивних результатів при зчитуванні.
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 незначне самоокислення хромогену, що призводить до високого фону.

N. СХЕМА АНАЛІЗУ

| Метод | Операції |
|---|--|
| Негативний і позитивний контроль | 100 мкл (µl) |
| Нейтралізуючий реагент (тільки для зразків) | 50 мкл (µl) |
| Зразки розведені 1:101 | 100 мкл (µl) |
| 1-а інкубація | 60 хв |
| Температура | +37 °C (°C) |
| Етап промивання | 5 циклів із 20 хв. замочування АБО 6 циклів без замочування |
| Ферментний кон'югат | 100 мкл (µl) |
| 2-а інкубація | 60 хв |
| Температура | +37 °C (°C) |
| Крок промивання | 5 циклів із 20 хв. замочування АБО 6 циклів без замочування |
| ТМБ/Н ₂ O ₂ | 100 мкл (µl) |
| 3-я інкубація | 20 хв |
| Температура | КТ |
| Сірчана кислота | 100 мкл (µl) |
| Зчитування ОЩ | 450 нм (nm) /620-630 нм (nm) |

Нижче наведено приклад схеми розподілу для Кількісного аналізу:

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

Легенда: BLK = Бланк NC = Негативний контроль
PC = Позитивний контроль S = Зразки

O. ВНУТРІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Перевірка валідації здійснюється на контролях і калібраторі щоразу, коли використовується набір, щоб перевірити, чи результати аналізу відповідають очікуванням і вимогам директиви IVDD 98/79/EC. Переконайтеся, що такі дані збігаються:

| Перевірка | Вимоги |
|----------------------|--------------------------------|
| Бланк-лунка | < 0.100 значення ОЩ450 нм (nm) |
| Негативний контроль | ≤0.150 ОЩ450 нм (nm) |
| Позитивний контроль | ≥ 0.750 ОЩ450 нм |
| Середнє значення KB% | <30% |

Якщо результати тесту відповідають вимогам, зазначеним вище, перейдіть до наступного розділу. Якщо цього не сталося, не продовжуйте далі, а проведіть наступні перевірки:

| Проблема | Перевірка |
|---|--|
| Бланк-лунка >0.100 ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm) | 1. щоб розчин Хромогену/Субстрату не був забруднений під час аналізу |
| Негативний Контроль >0.150 | 1. щоб процедури промивання та налаштування вошера були підтвержені в попередньому кваліфікаційному дослідженні; 2. щоб був використаний відповідний мийучий розчин і вошер був |

| | |
|---------------------------------------|---|
| | <p>праймований ним перед використанням;</p> <p>3. не було допущено жодної помилки в процедурі аналізу (видача позитивного калібратора замість негативного;</p> <p>4. що жодного забруднення негативного калібратора або його лунок не відбулося через позитивні зразки, розлив або ферментний кон'югат;</p> <p>5. що мікропіпетки не були забруднені позитивними зразками або кон'югатом ферменту</p> <p>6. що голки вошера не заблоковані або частково не забруднені</p> |
| Позитивний Контроль < 0.750 | <p>1. що процедуру проведено правильно;</p> <p>2. що під час дистрибуції контролю не сталося жодної помилки (наприклад: додали неправильний калібратор);</p> <p>3. що процедура промивання та налаштування вошера були перевірені під час попереднього кваліфікаційного дослідження;</p> <p>4. що не відбулося жодного зовнішнього забруднення калібратора.</p> |

Якщо виникла одна з цих проблем, після перевірки повідомте керівника для подальших дій.

P. РЕЗУЛЬТАТИ

Якщо тест виявляється дійсним, результати розраховуються на основі середнього значення ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm) негативного контролю (NC) за допомогою граничного значення (Co), визначеного за такою формулою:

$$\text{CUT-OFF} = \text{NC} + 0.250$$

Важлива примітка: коли обчислення результатів виконується операційною системою автоматизованої робочої станції ІФА, переконайтеся, що використовується правильна формула для створення правильної інтерпретації результатів.

Q. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати випробувань інтерпретуються як співвідношення значення ОЩ450 нм (nm) /620-630 нм (nm) зразка (S) і граничного значення (Co), або S/Co, відповідно до наступної таблиці:

| S/Co | Інтерпретація |
|-----------|---------------|
| < 1.0 | Негативний |
| 1.0 – 1.1 | Сумнівний |
| > 1.0 | Позитивний |

Негативний результат свідчить про відсутність у пацієнта антитіл IgM до вірусу кору.

Будь-якого пацієнта, який показує неоднозначний результат, слід повторно перевірити на іншому зразку, взятому через 1-2 тижні після першого зразка.

Позитивний результат свідчить про триваючу інфекцію вірусу кору, тому пацієнта слід лікувати відповідно.

Важливі примітки:

1. Інтерпретація результатів повинна проводитися під наглядом керівника лабораторії, щоб зменшити ризик невірних інтерпретацій та помилок у судженнях.
2. Коли результати тестувань передаються з лабораторії в іншу установу, необхідно звернути увагу, щоб уникнути помилкової передачі даних.
3. Діагноз повинен поставити і передати пацієнту лікар з відповідною кваліфікацією.

Приклад обчислення показаний нижче.

Наведені нижче дані не можна використовувати замість реальних цифр, які отримав користувач.

Негативний контроль: 0.080 – 0.120 ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm)
Середнє значення: 0.100 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)
Нижче, ніж 0.150 – Приймається
Позитивний контроль: 1000 ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm)
Вище, ніж 0.750 – Приймається
Cut-off = 0.100+0.250 = 0.350

Зразок 1: 0.080 ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm)
Зразок 2: 1.800 ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm)
Зразок 1 S/Co < 1.0 = Негативний
Зразок 2 S/Co > 1.2 = Позитивний

Р. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Оцінку продуктивності проводили на панелях позитивних і негативних зразків з посиланням на референсний набір з маркуванням CE.

1. Діагностична специфічність та чутливість:

Діагностична **чутливість** була розрахована на панелі позитивних зразків, отриманих від дітей, які мали клінічні ознаки вірусної інфекції кору.

При використанні референсного пристрою спостерігалось значення > 98%.

Діагностична **специфічність** була розрахована на панелі зразків, отриманих від звичайних людей, які не мали ознак зараження вірусом кору.

Спостерігалось значення \geq 98%.

Ці висновки підсумовані в наступній таблиці.

| | |
|---------------|------------|
| Чутливість | \geq 98% |
| Специфічність | \geq 98% |

2. Відтворюваність:

Дослідження, проведене на трьох зразках різної реактивності проти вірусу кору IgM, досліджених у 16 повторях у трьох окремих запусках, показало значення КВ% у діапазоні 4-20% залежно від показників ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm).

Змінюваність, показана в таблицях, не призвела до неправильної класифікації зразка.

5. ОБМЕЖЕННЯ

Помилкова позитивність була оцінена як менше, ніж 2% від нормальної популяції, і здебільшого була обумовлена дуже високими значеннями РФ у зразку.

Заморожені зразки, що містять частинки або агрегати фібрину, можуть давати хибнопозитивні результати.

ЛІТЕРАТУРА

1. Torrey EF and Yolken RH. 2005. Their bugs are worse than their bite. Washington Post, April 3, p. B01.
2. Live attenuated measles vaccine. EPI Newsl. 1980 Feb;2(1):6.
3. Rima BK, Earle JA, Yeo RP, Herlihy L, Baczko K, ter Muelen V, Carabana J, Caballero M, Celma ML, Fernandez-Munoz R 1995 Temporal and geographical distribution of measles virus genotypes. J Gen Virol 76:11731180.
4. Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, and AM Skalka. Principles of Virology, 2nd edition: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses.
5. "Measles kills more than 500 children so far in 2005", IRIN, 2005-03-21. Retrieved on 2007-08-13.
6. Parker A, Staggs W, Dayan G et al. (2006). "Implications of a 2005 measles outbreak in Indiana for sustained elimination of measles in the United States". N Engl J Med 355 (5): 447-55. PMID 16885548.
7. Dillner L. "The return of the measles party", Guardian, 2001- 07-26. Retrieved on 2007-08-13.
8. Rutter M (2005). "Incidence of autism spectrum disorders: changes over time and their meaning". Acta Paediatr 94 (1): 2-15. PMID 15858952.
9. Telegraph article on increasing cases of measles.
10. Measles outbreak shows a global threat - The Boston Globe. Retrieved on 2007-12-05.
11. The Viral Eradication Trinity. Retrieved on 2007-12-05.

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю відповідно до правила ISO 13485. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови, що вона відповідає технічним специфікаціям ЄС та критеріям прийнятності.



ВИРОБНИК

DIA.PRO

Diagnostic Bioprobes Srl
Via G. Carducci n° 27
20099 Sesto San Giovanni
(Milano) - Italy
Phone +39 02 27007161
Fax +39 02 44386771
e-mail: info@diapro.it

ТОВ ДІА.ПРО

Діагностік Біопробс s.r.l.
вул. Г. Кардуччі, 27
20099 Сесто Сан Джованні
Мілан (МІ) Італія
тел.: +39 02 2700 7161
факс: +39 02 44386771
e-mail: info@diapro.it



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

