

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgM К ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ

1202-11, CMV IgM ELISA

Каталог. № : 1202-11
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 08-08-2012



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	CMV IgM ELISA
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Непрямой ИФА: Пластина, покрытая антигенами
Диапазон обнаружения	Количественный: Отрицательный контроль и Cut off
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	97%
Чувствительность	98%
Общее время	~ 75 мин.
Срок хранения	12-18 мес.

**Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание*

ПРИМЕНЕНИЕ

Набор CMV IgM предназначен для определения IgM антител к цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

Цитомегаловирус является вирусом герпеса и основным биологическим фактором, вызывающим врожденные аномалии и нарушения, которые передаются при переливании крови при проведении иммуносупрессивной терапии. Около половины беременных женщин, заразившихся данной болезнью, передают заболевание плоду. Приобретенная внутриутробная инфекция может стать причиной задержки умственного развития, слепоты и/или глухоты.

Серологические анализы по определению антител к ЦМВ могут использоваться для получения информации об истории предыдущих случаев инфицирования, для диагностики наличия активной формы болезни или перенесенной болезни, а также для скрининга образцов крови, предназначенных для переливания новорожденным и иммуно-компромиссным реципиентам. Diagnostic Automation CMV IgM является точным серологическим методом для определения антител к ЦМВ для идентификации инфекции ЦМВ.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген, привитый к поверхности микроячеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки и специфическое антитело CMV IgM, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он связывается с комплексом антитело-антиген. Остатки ферментного конъюгата вымываются и добавляются субстрат и хромоген. Каталитическая реакция останавливается в специфическое время. Интенсивность вырабатываемого цвета пропорциональна количеству специфического IgM антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Лунки микропланшета, покрытые очищенным антигеном ЦМВ (12 x 8 лунок).
2. Абсорбирующий раствор: черный колпачок – 1 флакон (22 мл)
3. Калибратор: Значение фактора (f) указано на этикетке. Красный колпачок. – 1 флакон 150 мкл
4. Отрицательный контроль: диапазон указан на этикетке. Прозрачный колпачок – 1 флакон 150 мкл

5. Положительный контроль: диапазон указан на этикетке. Зеленый колпачок – 1 флакон 150 мкл
6. Промывочный концентрат: 10х, белый колпачок – 1 бут. 100 мл
7. Ферментный конъюгат: раствор красного цвета – 1 флакон 12 мл
8. ТМБ хромогенный субстрат: янтарная бутылка – 1 флакон 12мл
9. Стоп раствор: 1 флакон 12 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Набор хранить при 2-8°C.
2. Микролунки всегда хранить в герметичной упаковке с осушителями. Рекомендуется использовать лунки в течении 4 недель после вскрытия
3. Все реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время их хранения или использования.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ (1+2), ни один из известных методов не может дать полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами, как с потенциально инфекционным материалом.
2. В целях безопасности в лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой, пипетировать компоненты набора ртом.
3. Не использовать для проведения анализа реагенты разных серий.
4. Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом и медью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

СБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Собрать образцы крови и отделить сыворотку.
2. Образцы можно хранить при 2-8°C не более одной недели или замороженными в течении 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Подготовить 1х промывочный буфер. Подготовить промывочный буфер добавлением дистиллированной или деионизированной воды к 10х промывочному концентрату для достижения общего объема 1 литр.
2. Привести все образцы и наборы реагентов к комнатной температуре (20-25°C) и аккуратно перемешать.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместить нужное количество стрипов в штатив.
2. Развести разбавителем для образцов в соотношении 1:40, добавляя 5 мкл образца, отрицательный контроль, положительный контроль и калибратор до 200 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно перемешать.
3. В соответствующие лунки внести по 100 мкл разведённых образцов сыворотки, калибратора и контролей. Для определения фона внести 100 мкл абсорбирующего раствора в лунку 1А. Удалить пузырьки воздуха из жидкости и тщательно перемешать содержимое лунок. Инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
4. Удалить жидкость из лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
5. Внести в каждую лунку по 100 мкл ферментного конъюгата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
6. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
7. Внести 100 мкл ТМБ хромогенного субстрата и инкубировать 15 минут при комнатной температуре.
8. Внести 100 мкл 2N HCl для остановки реакции. Убедиться, что перед помещением планшета в считыватель ни в одной лунке нет пузырьков воздуха.
9. С помощью считывателя измерить оптическую плотность лунок при 450 нм.

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Для получения порогового значения ОП: Умножить ОП калибратора на коэфф., напечатанный на этикетке калибратора.
2. Вычислите коэффициент CMV IgM каждого определения делением значения ОП каждого образца на полученную ОП порогового значения. Пример:

Если значение коэфф. (f) на этикетке = 0,4
Полученная ОП калибратора = 1,100
ОП порогового значения = 1,100 x 0,4 = 0,44

ОП образца пациента = 0,580
Коэфф. CMV IgM = 0,580/0,44 = 1,32 (положительный результат)

ОП образца пациента = 0,320
Коэфф. CMV IgM = 0,320/0,44 = 0,73 (отрицательный результат)

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Ход анализа можно считать удовлетворительным, если выполняются следующие требования:

1. ОП бланка реагента с микропланшетного считывателя должна быть меньше 0,250
2. Если ОП калибратора будет меньше 0,250, тест считается не действительный и его нужно повторить
3. Коэфф. CMV IgM для отрицательного и положительного контроля должны быть в границах, указанных на ярлыке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: коэфф. CMV IgM = 0,90 или ниже является отрицательным для антитела IgM CMV

Сомнительный: коэфф. CMV IgM 0,91-0,99 является сомнительным. Образцы следует тестировать повторно.

Положительный: коэфф. CMV IgM 1,00 или выше является положительным.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность

Точность была оценена тестированием трех разных сывороток 8 репликантов три дня. Внутри и между тестовая точность показана ниже:

	Отрицательный, %	Низко положительный , %	Положительный, %
Внутри анализа	7,8	6,0	5,8
Между анализами	8,9	7,4	6,2

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

1. Для предотвращения фальшиво отрицательных и фальшиво положительных результатов IgM тестирования, что может быть вызвано присутствием специфического IgG и ревматоидного фактора в некоторых образцах, реагенты, поставляемые в этом наборе, разработаны таким образом, что б решить эту проблему. Однако, для образцов с высоким RF и высокими аутоиммунными антителами возможность этого влияния не решена.
2. Как и в других серологических анализах, результаты этого анализа должны интерпретироваться совместно с другой клинической информацией.
3. IgM может очень варьировать в разных индивидов. Описано, что 10-30% новорожденных могут не развивать IgM антитела при инфекции CMV. Более того, до 27% взрослых с первичной CMV инфекцией могут не демонстрировать IgM ответ. Поэтому, отсутствие CMV специфических IgM не обязательно исключает возможность CMV инфекции.
4. Присутствие или отсутствие CMV IgG и CMV IgM в беременной женщин является ограниченным значением в предсказуемой CMV инфекции. Однако присутствие специфического IgM в кровотоке новорожденных указывает на инфекцию. Поскольку образцы сыворотки могут быть собраны слишком рано при инфекции, они могут не содержать определяемого антитела IgM и в этом случае необходимо получить образцы 7-14 днями позже. При заборе крови пуповины необходимо быть осторожными, что б не допустить перекрестного загрязнения материнской кровью, а также необходимо быть осторожным при подтверждении положительного IgM антитела при тестировании образцов новорожденных.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com