



Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgM АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ
CYTOMEGALOVIRUS В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«Cytomegalovirus IgM-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF IgM ANTIBODIES TO CYTOMEGALOVIRUS
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

Cytomegalovirus IgM-EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K103M**

ТУ № 9398-1031-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/07073 от 16 марта 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/ На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

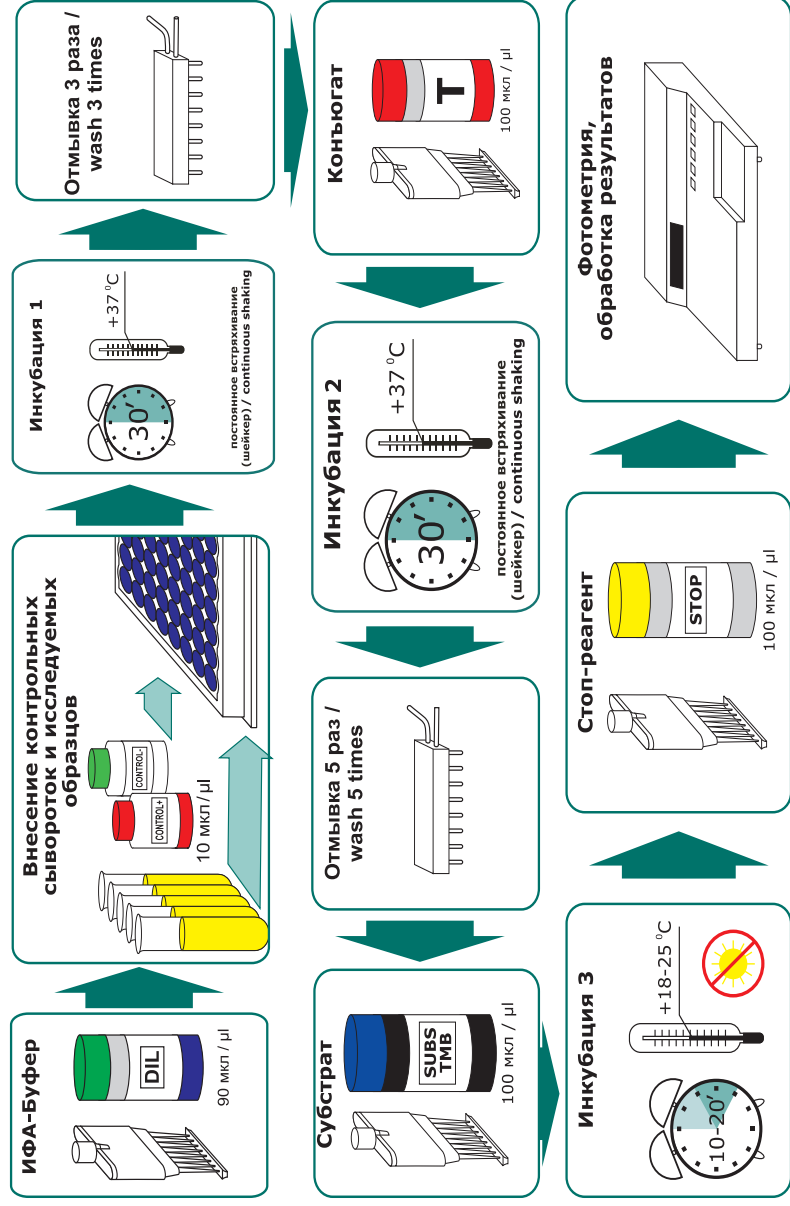
105264 Moscow, Russia

Tel./fax: +7(495) 510-57-07

e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com

Схема проведения анализа / Test procedure



K101M; K102M; K103M

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	6
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	9
11. ЛИТЕРАТУРА	9

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	15
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	16
12. LITERATURE	16

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgM АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ ЦЫТОМЕГАЛОВИРУС В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «Cytomegalovirus IgM-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА» предназначен для качественного определения концентрации IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ, Cytomegalovirus) – вирусное инфекционное заболевание человека, протекающее в субклинической и клинической формах с местными или полиорганными поражениями. Рецидивы болезни обусловлены пожизненной персистенцией вируса в инфицированном организме. В большинстве случаев протекание ЦМВИ бессимптомно, клинические проявления ЦМВИ наблюдаются в условиях иммунной недостаточности (вследствие ВИЧ-инфекции, химиотерапии, иммуносупрессивной терапии). ЦМВИ у беременных может приводить к внутриутробному инфицированию и формированию патологии плода. Поэтому важное значение имеют лабораторные методы диагностики ЦМВИ, особенно перед пересадкой органов, а также на этапе планирования беременности.

1.3. При первичном инфицировании цитомегаловирусом человека через несколько недель в крови выявляются специфические к ЦМВ IgM антитела, которые циркулируют в крови на протяжении нескольких недель и медленно снижаются через 4–6 месяцев. Анти-ЦМВ специфические IgG антитела появляются в крови на неделю позже IgM специфических антител. Антитела IgG сохраняются в крови на протяжении всей жизни. Реактивация инфекции вызывает нарастание титра IgG антител, нередко при этом поднимается и титр IgM, но не до такого уровня, как при первичном заражении.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgM антител к антигенам Cytomegalovirus основано на использовании принципа «IgM-захват» твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы моноклональные антитела к IgM. Антитела из образца связываются с антителами к IgM на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата антигена ЦМВ pp150 с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемом образце. Индекс позитивности (ИП, %) IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность и чувствительность.

Набор реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА» определяет коммерческую панель сывороток Anti-CMV Mixed Titer Performance Panel PTC202(M) производства Boston Biomedica Company (США) в соответствии с паспортными данными и коррелирует со значениями, полученными на наборе реагентов Abbott EIA CMV-IgM (lot 44423M100). Панель содержит 3 положительных и 8 отрицательных образцов. При исследовании специфичности с использованием 52 сывороток, отрицательных на антитела к ЦМВ на наборах реагентов DiaSorin (Италия) и NovaTec (Германия), все образцы были определены как отрицательные.

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «Cytomegalovirus IgM-ИФА» не превышает 8.0%.

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях набора реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА» (Intra-assay)

Образец, №	Кол-во повторов	Значение, ОП средняя	CV1, %	CV2, %
1	32	0.504	5.9	6.5
2	32	1.908	3.7	3.5

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на одной серии набора реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА» в течение трех дней (Inter-assay)

Образец, №	Кол-во повторов	Значение, ОП средняя	CV1, %
1	8	0.54	8.7
2	8	1.98	6.1

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P103MZ	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	CN103MZ CP103MZ	CONTROL – CONTROL+	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgM антител к антигенам Cytomegalovirus, готовы к использованию (0.5 мл и 0.2 мл соответственно)	2	шт.	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T103MZ	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003		Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K103MI		Инструкция по применению Набора реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА»	1	шт.	-
10	K103MQ		Паспорт контроля качества Набора реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат или термостатируемый шейкер, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;

- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;

- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;

- вода дистиллированная;

- перчатки резиновые или пластиковые;

- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб контрольных сывороток (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Буфер для разведения образцов, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- контрольные сыворотки после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых в течение срока годности осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышиные антитела.

8.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.7. Допускается проведение анализа в монопликатах при использовании автоматического или полуавтоматического анализаторов.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.

продолжение таблицы на стр 7

3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток . В остальные лунки внесите в дубликатах по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови . Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	ВНИМАНИЕ! При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37°C и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °C и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометраставляйте по воздуху.
13	Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах. Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $\text{ОП (CN103MZ)Cp} = (\text{ОП1 (CN103MZ)} + \text{ОП2 (CN103MZ)} + \text{ОП3 (CN103MZ)}) / 3;$ Результаты анализа считать достоверными, если - ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (ОЕ) - ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 ОЕ во всех лунках 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.3 $\text{Cut off} = \text{ОП (CN103MZ)Cp} + 0.3$ 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off $\text{ИП} = \text{ОП образца} / \text{Cut off}$

Альтернативный формат.

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток . В остальные лунки внесите в дубликатах по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови . Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	ВНИМАНИЕ! При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 60 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

продолжение таблицы на стр 9

13	Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах. Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $\text{ОП (CN103MZ)Cp} = (\text{ОП1 (CN103MZ)} + \text{ОП2 (CN103MZ)} + \text{ОП3 (CN103MZ)}) / 3;$ Результаты анализа считать достоверными, если - ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (ОЕ) - ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 ОЕ во всех лунках 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.3 Cut off = ОП (CN103MZ)Cp + 0.3 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off ИП = ОПобразца / Cut off
----	--

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Интерпретация результатов:

При ИП>1.1 образец положительный,

при ИП<0.9 – отрицательный.

При значении ИП, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 – результат в пограничной зоне (+/-).

Такие сыворотки рекомендуется исследовать повторно. Если повторный полученный результат будет неопределенным, то следует провести тестирование сыворотки, полученной через 2–4 недели. В случае получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Ершов Ф.И., Касьянова Н.В. Цитомегаловирусная инфекция (современные данные об эпидемиологии, клинике, диагностике и терапии) // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002 – т.4 – №4
2. Revello M.G., Gema G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus and newborn infant // Clin. Microbiol. Rev. – 2002- v.15, no.4 – p.680-715
3. Pass R.F. Cytomegalovirus infection // Pediatrics in Reviews – 2002 – v.23, no.5 – p.25-29
4. Plachter B., Weiczorek L., Scholl B.C. et al. Detection of cytomegalovirus antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant polypeptides of large phosphorylated tegument protein pp150 // J. Clin. Microbiol. – 1992 – v.30, no.1 – p.201-206
5. Vomhagen R., Plachter B., Hinderer W. et al. Early serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens // J. Clin. Microbiol. – 1994 – v.32, no.4 – p.981-986

По вопросам, касающимся качества Набора **«Cytomegalovirus IgM-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу: 105264, Москва, а/я 58, тел./факс: (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный) электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com
Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUALITATIVE DETERMINATION OF IGM ANTIBODIES TO CYTOMEGALOVIRUS IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgM antibodies to Cytomegalovirus in serum or plasma.

This kit is designed for measurement of IgM antibodies to Cytomegalovirus in serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 46 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Cytomegalovirus (CMV) infection is a human infectious disease which may progress both with and without clinical signs and cause local or multiorgan damage. Due to a life-long persistence of CMV in the infected organism, the disease may have recurrences. Most cases of CMV infection are asymptomatic, clinical signs being evident only in immunocompromised patients (HIV infection, chemotherapy and other immunosuppressive treatment). CMV infection in pregnant women may cause intra-uterine infection of the fetus and birth defects. That is why in vitro diagnostics of CMV infection plays an important role - especially, before organ transplantation and during pregnancy.

In case of a primary infection, first anti-CMV antibodies of IgM isotype are found several weeks after infection. They persist in circulation for several weeks and then, from month 2-3, began to gradually decrease to reach minimal concentration by the month 8. CMV-specific IgG antibodies appear ca. 1 week following appearance of IgM and persist in circulation life-long. Recurrence of the infection induces raise of CMV-specific IgG. Sometimes it is accompanied by elevation of CMV-specific IgM level; however, this level never reaches titers seen during primary infection.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated with murine monoclonal antibodies to human IgM. Antibodies from the specimen bind coated murine monoclonal antibodies to IgM on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. CMV antigen, labelled with peroxidase enzyme, is then added into the microwells and binds to anti-CMV IgM if present in total IgM fixed. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Positivity index (PI, %) is calculated by the formula (see Calculations). Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

4.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

4.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

4.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

4.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

4.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

4.10. Do not mix reagents from different lots.

4.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

4.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

4.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Cytomegalovirus IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CONTROL -, CONTROL +	Control sera (0.5 ml and 0.2 ml, resp.)	2	pcs	colourless ; red	2 months
3 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	green	until exp.date
4 DIL	EIA buffer 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K103MI	Instruction Cytomegalovirus IgM EIA	1	pcs		N/A
10 K103MQ	QC data sheet Cytomegalovirus IgM EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 90–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 10–250 µl;
- Dry thermostat or thermostat shaker for 37 °C ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - CONTROL + and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 30 minutes at +37 °C and continuous shaking at 500-600 rpm.

(Continuation see page 14)

5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
6	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C and continuous shaking at 500-600 rpm.
8	Wash the strips 5 times.
9	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
10	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
11	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
12	Measure OD (optical density) at 450 nm.
13	Set photometer blank on air.

Alternative incubation:

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - CONTROL + and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 60 minutes at +37 °C.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
6	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C.
8	Wash the strips 5 times.
9	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
10	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
11	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
12	Measure OD (optical density) at 450 nm.
13	Set photometer blank on air.

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

For the assay to be valid, the following requirements should be met:

1. OD450 for CONTROL+ should be ≥ 1 AU.
2. OD450 for CONTROL- should not be more than 0.15 AU for all replicates.
3. OD450 for any CONTROL- replicate should be within 50%-150% of the mean OD450 value for CONTROL-. If any value lies outside this range (although meets requirement #2), it should be discarded and not used for calculation of the mean OD450 value for CONTROL-

9. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for CONTROL- in triplicates and each pair of samples.
2. Calculate the cut-off value: (mean OD450 for CONTROL-) + 0.3.
3. Calculate Positivity Index (PI) for each sample: $PI = \text{mean OD450}(\text{sample}) / \text{Cut-off}$

10. EXPECTED VALUES AND ASSAY LIMITATIONS

If PI value is greater than 1.1, the result is POSITIVE.

If PI value is less than 0.9, the result is NEGATIVE.

If PI value is between 0.9 and 1.1, the result is EQUIVOCAL. Such samples should be retested. If the result is equivocal again, a new sample should be obtained 2-4 weeks later and tested again. If the result remains equivocal, the sample should be considered negative.

Therapeutic consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutic measures. NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity

Specificity of the test was evaluated on 55 serum specimens found negative in DiaSorin (Italy) and NovaTec (Germany). All tested specimens were found negative. Based on these data, specificity of the test is 100%.

11.2. Analytical sensitivity

The kit Cytomegalovirus IgM EIA was evaluated using panel of naturally occurring serum and plasma specimens from Boston Biomedica, Inc (Anti-CMV Mixed Titer Performance Panel PTC202(M)).

11.3. Precision

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, K	CV1, %	CV2, %
1	32	0.504	5.9	6.5
2	32	1.908	3.7	3.5

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, K	CV, %
1	8	0.54	8.7
2	8	1.98	6.1

12. LITERATURE

1. Ershov F.I., Kasjanova N.V. Cytomegalovirus infection (epidemiology, clinical signs, diagnostics and treatment: current data). Infections and anti-microbial therapy - 2002 -v..4 - №4
2. Revello M.G., Gema G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus and newborn infant // Clin. Microbiol. Rev. - 2002- v.15, no.4 - p.680-715
3. Pass R.F. Cytomegalovirus infection // Pediatrics in Reviews - 2002 - v.23, no.5 - p.25-29
4. Plachter B., Weiczorek L., Scholl B.C. et al. Detection of cytomegalovirus antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant polypeptides of large phosphorylated tegument protein pp150 // J. Clin. Microbiol. - 1992 - v.30, no.1 - p.201-206
5. Vomhagen R., Plachter B., Hinderer W. et al. Early serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens // J. Clin. Microbiol. - 1994 - v.32, no.4 - p.981-986

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими Наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

