

«СОГЛАСОВАНО»

Директор ФИЦ ФТМ



М.И. Воевода

2021 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»



В.В. Осипова

2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO

**Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител класса М
к цитомегаловирусу (ЦМВ) в сыворотке (плазме) крови
«ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-013-41390295-2021**

1. Назначение набора

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител класса М к цитомегаловирусу (ЦМВ) в сыворотке (плазме) крови «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-013-41390295-2021 предназначен для качественного выявления антител класса М (IgM) к антигенам цитомегаловируса (далее по тексту ЦМВ) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» рекомендуется применять:

- как вспомогательное средство в диагностике ЦМВ - инфекции;
- для подтверждения наличия антител к ЦМВ;
- для наблюдения за беременностью в целях своевременной диагностики острой цитомегаловирусной инфекции;
- в случае подозрения на внутриутробное инфицирование плода;
- для мониторинга эпидемиологической ситуации среди населения.

Только для диагностики in vitro.

1.2. Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

1.3. Набор реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» предназначен для профессионального применения. Потенциальный потребитель: профессиональная квалификационная группа "Средний медицинский и фармацевтический персонал не ниже 2 квалификационного уровня, профессиональная квалификационная группа "Врачи и провизоры" всех уровней (Приказ МЗ РФ № 526 от 06.08.2007).

2. Характеристика изделия

2.1. Состав набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА»:

Т а б л и ц а 1. Состав набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА»

Название компонента	Описание компонента	Комплект 1	Комплект 2	Комплект 3
Иммуносорбент	Запаянный в фольгированный пакет 96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированным рекомбинантными антигенами ЦМВ.	1 шт.	2 шт.	5 шт.
К(+)	Инактивированный положительный	1 флакон	2 флакона	1 флакон

	контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий антитела к ЦМВ. Готов к применению. Прозрачная жидкость желтого цвета	(1,0 мл)	(1,0 мл)	(5,0 мл)
К(-)	Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий IgM антитела к ЦМВ. Готов к применению. Прозрачная жидкость синего цвета	1 флакон (2,0 мл)	2 флакона (2,0 мл)	1 флакон (10,0 мл)
ФСБ-Т(х26)	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Требуется разведение	1 флакон (30,0 мл)	2 флакона (30,0 мл)	1 флакон (250 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость фиолетового цвета. Готов к использованию.	1 флакон (11,0 мл)	2 флакона (11,0 мл)	1 флакон (55,0 мл)
РК	Раствор конъюгата. Смесь мышиных моноклональных антител против IgM человека с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость синего цвета. Готов к использованию.	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)
ТМБ-субстрат	Раствор субстрата ТМБ. Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (7,0 мл)	2 флакона (7,0 мл)	1 флакон (31,0 мл)
Пленка для заклеивания планшета		3 шт.	6 шт.	15 шт.
Инструкция по использованию набора реагентов		1 шт.	1 шт.	1 шт.

В комплект каждой поставки должен входить аналитический паспорт в одном экземпляре независимо от количества наборов реагентов в поставке.

2.2. Число анализируемых проб

Набор реагентов выпускается в трёх базовых вариантах комплектации и рассчитан на 96 определений (комплект 1), 192 определения (комплект 2) и 480 определений (комплект 3) включая контрольные образцы, с использованием анализатора автоматического иммуноферментного открытого типа или с помощью ручной постановки анализа.

Возможны отдельные независимые постановки анализа с необходимым количеством стрипов **Иммуносорбента**.

2.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов – непрямой двухстадийный иммуноферментный анализ. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы рекомбинантные антигены ЦМВ. В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgM антител к ЦМВ образуется комплекс антиген-антитело, выявляемый посредством последующей инкубации с раствором конъюгата **РК** (смесь мышиных моноклональных антител против IgM человека с пероксидазой хрена). При добавлении рабочего раствора **ТМБ** в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета

окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением **Стоп-реагента**. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству IgM к антигенам ЦМВ в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

3. Аналитические характеристики

3.1. Чувствительность набора реагентов

Чувствительность набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» при исследовании на контрольной панели сывороток «ЦМВ-IgM контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ, Россия) составляет 100% без ложноотрицательных результатов.

3.2. Специфичность набора реагентов

Специфичность набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» при исследовании на контрольной панели сывороток «ЦМВ-IgM контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ, Россия) составляет 100% без ложноположительных результатов.

3.3. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний повторяемость определялась для трех положительных образцов в 30 повторах на девяти сериях набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА». Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения ОП не превысили 8 %.

В рамках проведения технических испытаний повторяемость определялась для восьми повторов K(+). Коэффициент вариации измерения оптической плотности K(+) в восьми повторах на наборе реагентов не превысил 8 %.

В рамках проведения клинических испытаний повторяемость определялась для 6 образцов сыворотки крови и 6 образцов плазмы крови человека. Внутрисерийный коэффициент вариации результатов образцов каждого типа в 10 повторах одной серии не превышает 8 %. Межсерийный коэффициент вариации результатов в одном и том же образце для каждого типа образца на наборе реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» не превысил 8 %.

3.4. Воспроизводимость

Для определения воспроизводимости анализа была проведена оценка результатов повторяемости анализа в трех лабораториях. Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» при исследовании положительных образцов, содержащих антитела к вирусу гепатита С в 10 повторах не превышает 8,0 %.

3.5. Правильность

Правильность определения положительного контроля в ходе проведения технических испытаний набора реагентов составила 100%.

3.6. Перекрестная реактивность

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 140 заведомо отрицательных сыворотках крови человека, не содержащих антитела к ЦМВ и содержащих антитела к возбудителям герпесвирусов (Herpesviridae): вирусу Эпштейна-Барра, вирусу ветряной оспы (Varicella Zoster), вирусу герпеса 6 типа, вирусу герпеса 8 типа, вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, вирусу папилломы человека, а также от беременных женщин.

Результаты ИФА показали, что неспецифические взаимодействия рекомбинантного антигена цитомегаловируса с антителами различных инфекционных агентов маловероятны.

3.7. Интерферирующие вещества

В рамках клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа набора «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» проводили на образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих антитела к цитомегаловирусу.

На результат анализа не оказывают влияние гемоглобин (до 300,0 г/л), билирубин (до 300,0 мг/л), холестерин (до 4,0 г/л), общий белок (до 150,0 г/л), глюкоза (до 2,0 г/л), триглицериды (до 10,0 г/л), этанол (2,0 г/л), молочная кислота (до 400,0 мг/л) и мочевины (до 800,0 мг/л) в клинических образцах.

3.8. Эквивалентность

В рамках клинических испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке анализа на сыворотке и плазме крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента, содержащих и не содержащих антитела к цитомегаловирусу, методом ИФА при постановке по процедуре №1 (термошейкер) и процедуре №2 (термостат).

3.9. Стабильность

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для установления срока годности и условий хранения набора «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА».

В результате установлено, набор «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8 °С в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 мес. после окончания срока годности; сохраняет стабильность после транспортировки при температуре от 9 до 28 °С в течении 7 дней и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 мес. после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и хранения их при температуре от 2 до 8 °С в течение 24 мес. Воздействие температуры не выше 28 °С в течение 7 суток не влияет на характеристики набора реагентов. Допускается транспортирование при температуре не выше 28 °С в течение 7 суток. Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранится в течение 3 суток при температуре от 18 до 28 °С или 30 суток при температуре от 2 до 8 °С.

3.10. Диагностическая чувствительность набора реагентов

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность выявления IgM антител к цитомегаловирусу определяли на 222 положительных образцах, показана 100 % чувствительность (ДВ 95%, ДИ: 98,65% - 100%).

3.11. Диагностическая специфичность набора реагентов

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность выявления IgM антител к цитомегаловирусу определяли на 350 отрицательных образцах, показана 100 % специфичность (ДВ 95%, ДИ: 99,14% - 100%).

4. Меры предосторожности

4.1. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 2Б.

4.2. Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СП 1.3.2322 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». При работе с набором реагентов требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.3. Так как контрольные и анализируемые образцы, компоненты набора реагентов являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток.

4.4. Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.

4.5. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления положительного контроля, инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч, содержит IgM антитела к ЦМВ человека и не содержат p24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и *Treponema pallidum*.

4.6. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления отрицательного контроля, инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч, не содержит антитела к ЦМВ, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, *Treponema pallidum*, p24 ВИЧ-1 и HBsAg.

4.7. В состав компонентов **K(+), K(-), РРО, РК, ТМБ-субстрат, ФСБ-Т(x26)** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **K(+)** содержит 0,1% Проклина 300, **K(-)** – 0,1% Проклина 300; **РРО** – 0,1% Проклина 300; **РК** – 0,1% фенола; **ТМБ-субстрат** – 0,03% бензоата натрия; **ФСБ-Т(x26)** – 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

4.8. **Стоп-реагент** обладает раздражающим действием, за счет кислоты серной входящей в состав. При работе избегать попадания **Стоп-реагента** на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики «in vitro». Все реактивы в используемых концентрациях, входящие в состав компонентов набора реагентов – нетоксичные.

4.9. Нельзя пипетировать растворы ртом.

4.10. Все промывные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.

4.11. Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер, обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий».

4.12. Лабораторную посуду многоразового использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество ИФА.

4.13. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70 % раствором этилового спирта.

5. Обеспечение качества исследований

5.1. Выполнять процедуру анализа следует в строгом соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов.

5.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

5.3. Не использовать реагенты других производителей.

5.4. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа.

5.5. Не подвергать реагенты воздействию высоких температур и прямых солнечных лучей в процессе использования и хранения.

5.6. Недопустимо замораживание набора реагентов, как целиком, так и отдельных ее компонентов.

5.7. Исследования проводить в помещении с комнатной температурой (в соответствии с действующей нормативной документацией).

5.8. Не проводить исследования в присутствии паров щелочей, кислот, альдегидов, в запыленном помещении.

5.9. Для дезинфекции использовать реагенты, не оказывающие воздействия на ферментативную реакцию: дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

5.10. В помещении, где проводится исследование, не использовать дезинфицирующие средства, содержащие активный кислород и хлор.

5.11. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

5.12. Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

5.13. При работе с образцами и реагентами набора использовать чистые, новые одноразовые наконечники отдельно для каждого анализируемого образца и компонента набора реагентов.

5.14. Исключить контакт металлических предметов с раствором конъюгата (РК), раствором ТМБ-субстрата.

5.15. Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

5.16. Не использовать одну и ту же ёмкость, в том числе и многоразовую, после промывки, для раствора конъюгата РК и раствором ТМБ-субстрата.

5.17. Рекомендуется для отбора раствора конъюгата (РК) и раствором ТМБ-субстрата использовать разные дозаторы пипеточные. При использовании одного дозатора необходимо тщательно следить за чистотой посадочного конуса дозатора. Перед сменой реагента тщательно обрабатывать внутреннюю и внешнюю поверхности посадочного конуса 70% этиловым спиртом.

5.18. Для отмывки **Иммуносорбента** рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости дистиллированной (деионизированной) водой. Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.

5.19. Для исключения контаминации образцов друг другом и **К(+)** требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

6. Оборудование и материалы

- прибор комбинированный Testo 608-H1, позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне $0-30^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, относительную влажность – 20-90%;

- дозаторы лабораторные переменного объема одно- и многоканальные вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- наконечники одноразовые к дозаторам лабораторным вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- ванночки для разведения компонентов;

- микроцентрифуга лабораторная на 1000-3000 об/мин;

- термостатирующее устройство для планшетов (или термостат) с режимом термостатирования $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$;

- орбитальный термошейкер, поддерживающий температуру $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и с частотой вращения платформы 700 об/мин.;

- устройство для промывания планшета (вошер);

- спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий выполнять измерения оптической плотности содержимого лунок планшета при 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр) или анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;

- холодильная или морозильная камера;
- цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;
- ёмкость с крышкой для жидкого дезинфицирующего средства;
- вода дистиллированная или деионизированная;
- бумага фильтровальная;
- таймер;
- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;
- лабораторная посуда.

7. Анализируемые пробы

7.1. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца - 20 мкл.

7.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови до анализа ИФА хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8 °С. Длительное хранение (до 6 месяцев) анализируемых образцов осуществлять при температуре минус 20 °С.

7.3. Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27 °С) тщательно перемешать для устранения возникающего при заморозке градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждая последующая заморозка-разморозка снижает качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования, производитель набора реагентов рекомендует использовать только однократное замораживание-размораживание образцов, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

7.4. Не рекомендуется использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным загрязнением («проростом»).

7.5. Образцы, содержащие осадок, взвешенные частицы, перед анализом подвергнуть центрифугированию в течение 10 мин при частоте вращения 3000 об/мин.

Внимание!

Перед подготовкой реагентов к работе и проведением исследования производитель настоятельно рекомендует еще раз прочитать раздел «Обеспечение качества исследований» настоящей инструкции по применению.

8. Подготовка компонентов для исследования

Т а б л и ц а 2. Условия внешней среды для постановки анализа

№п/п	Показатели	Значения
1	Температура воздуха	(25±5) °С
2	Относительная влажность	40-75 %
3	Атмосферное давление	630-800 мм рт. ст.

8.1. Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный Иммуносорбент.

Выдержать компоненты в течение 30 мин при температуре от 18 до 28°С, аккуратно перемешать.

Внимание!

К(+), К(-), РРО, РК, ТМБ-субстрат и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные **К(+), К(-), РРО, РК, ТМБ-субстрат и Стоп-реагент** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Компоненты **ФСБ-Т(x26)** представлены в виде концентрата. Требуют разведения.

8.2. Подготовка Иммуносорбента

Вскрыть пакет с **Иммуносорбентом**. Установить в рамку **Иммуносорбента** необходимое количество стрипов. Неиспользуемые в данной постановке стрипы сразу после вскрытия пакета с планшетом поместить в фольгированный пакет с застежкой типа zip-lock. Из пакета удалить остаточный воздух, закрыть застежку, убрать в холодильную камеру.

Хранить неиспользованные стрипы при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора реагентов.

Рамку планшета сразу после использования промыть дистиллированной (деионизированной) водой. Затем – 70% этиловым спиртом и повторно дистиллированной (деионизированной) водой. Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

8.3. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора (**ФСБ-Т(x26)**) возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с **ФСБ-Т(x26)** выдержать при температуре 37±1°C до полного растворения солей.

Содержимое флакона с **ФСБ-Т(x26)** перелить в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл и довести объем раствора до 750 мл водой дистиллированной (деионизированной).

При использовании одного или нескольких стрипов **Иммуносорбента** необходимое количество рабочего промывочного раствора **ФСБ-Т** приготовить в соответствии с Таблицей 2.

Рабочий промывочный раствор **ФСБ-Т** хранить при температуре от 18 до 28°C не более 3 дней или при температуре от 2 до 8°C не более 30 дней.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора (**ФСБ-Т(x26)**) хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Т а б л и ц а 3. Сводная таблица приготовления рабочих растворов

Количество используемых стрипов, шт.	Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	
	ФСБ-Т(x26), мл	Вода*, мл
1	2,0	до 50
2	4,0	до 100
3	8,0	до 150
4	10,0	до 200
5	12,0	до 250
6	14,0	до 300
7	18,0	до 450
8	20,0	до 500
9	22,0	до 550
10	24,0	до 600
11	26,0	до 650

12	30,0	до 750
----	------	--------

Примечание: * вода дистиллированная или деионизированная

9. Проведение анализа

Т а б л и ц а 4. Проведение анализа по процедуре №1 (использование термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 100 мкл К(+)* . Внести в две лунки по 100 мкл К(-)* . Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1- К(+) , лунки B1 и C1 – К(-)	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 80 мкл РРО , а затем по 20 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 20 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37± 1°C	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгат РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой	Время внесения раствора конъюгата РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. <u>Внимание!</u> Остатки рабочего раствора КГ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 20 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37± 1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора .	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной

	Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	аспирацией. Внимание! Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ-субстрата.	Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37± 1°C	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции

Т а б л и ц а 5. Проведение анализа по процедуре №2 (использование термостата). Процедура № 2 отличается от процедуры № 1 выполнением процедур 4 (четвертого), 7 (седьмого) и 10 (десятого) этапов анализа.

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	
2	Внести в 1 лунку 100 мкл К(+)*. Внести в 2 лунки по 100 мкл К(-)*. Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка А1- К(+), лунки В1 и С1 – К(-)	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки планшета внести по 80 мкл РРО, а затем по 20 мкл исследуемых образцов. Раствор тщательно и аккуратно перемешать пять раз пипетированием. Заклеить лунки планшета (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца.
4	Инкубировать планшет (стрипы) в течение 40 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°C	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению

	Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгат РК. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой	Время внесения раствора конъюгата РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. <u>Внимание!</u> Остатки рабочего раствора КГ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 40 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ-субстрата	Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. <u>Внимание!</u> Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат. температура инкубации: $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента.	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	<u>Внимание!</u> Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции.

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить так же, как и для ручной постановки анализа.

10. Расчеты

Результаты регистрируют при помощи спектрофотометра вертикального сканирования. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм или используя два фильтра - 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр).

Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху.

10.1. Критерии правильности теста

Для определения соответствия полученных результатов измерений критериям правильности теста рассчитывают среднее значение ОП в лунках с К(-).

Рассчитать ОП К(-) среднее:

$$\text{ОП К(-) среднее} = \frac{(\text{ОП К(-)}_1 + \text{ОП К(-)}_2)}{2}$$

При использовании 1 стрипа значение ОП К(-) среднее не определяют.

Среднее значение ОП К(-) должно быть не более 0,200.

При использовании одного стрипа: значение ОП в лунке с К(-) должно быть не более 0,200.

Значение ОП в лунке с К(+) должно быть не менее 0,500.

Если полученные значения ОП в лунках с контрольными образцами не соответствуют критериям правильности теста, результаты теста не учитывают. Исследование проводят повторно.

Рассчитать критический уровень оптической плотности – ОП крит.(Cut off):

$$\text{ОП крит.} = \text{ОП К(-) среднее} + 0,200^*$$

При использовании одного стрипа: ОП крит. = ОП К(-) + 0,200*

*0,200 – коэффициент, определенный методом статистической обработки результатов исследований на предприятии-изготовителе.

Или рассчитайте коэффициент позитивности КП:

$$\text{КП} = \text{ОП образца} / \text{ОП крит.}$$

10.2. Интерпретация результатов

Если ОП анализируемого образца меньше (<) ОПкрит. (или КП<1), результат исследования образца считают отрицательным: IgM антитела к ЦМВ не обнаружены.

Если ОП анализируемого образца больше или равно (≥) ОПкрит. (или КП≥1), результат исследования образца считают положительным: IgM антитела к ЦМВ обнаружены.

11. Утилизация отходов

11.1. Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территории городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий».

11.2. Все промывные растворы, собранные в специальный контейнер и обработанные дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке, следует утилизировать как отходы класса В.

11.3. Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий», следует утилизировать как отходы класса В.

11.4. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукomплектовать.

11.5. Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.

11.6. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли набора, раствор конъюгата и иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

11.7. Неиспользованные ТМБ-субстрата и стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

11.8. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

12. Ограничение теста

Следует помнить, что результаты тестирования на антитела не могут быть единственным критерием для диагностики или исключения ЦМВ инфекции, или для определения статуса инфекции.

Отрицательный результат исследования при наличии инфицирования ЦМВ возможен:

- у пациентов со слабым иммунным ответом (состояние иммуносупрессии).

Возможные причины ложноположительных результатов:

- наличие параллельных вирусных инфекций (ВИЧ, Вирус гепатита В и Сифилис);
- наличие различных соматических заболеваний (язвенные процессы в ЖКТ, диабет).

Срок годности, условия транспортировки и хранения

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в Таблице 6.

Т а б л и ц а 6. Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов

Параметр	Период	Условия
Срок годности набора реагентов	24 месяца	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Внимание! Замораживание не допускается
Транспортировка	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8° С
	7 суток	при температуре от 9 до 28°C
Вскрытые компоненты: К(+), К(-), ФСБ-Т(х26), ТМБ-субстрат, РК, РРО, Стоп-реагент, Иммуносорбент	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8° С
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	не более 3 дней	при температуре от 18 до 28°C
	не более 30 дней	при температуре от 2 до 8°C

13. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» требованиям нормативной и технической документации, а также качество и безопасность продукта в течение всего срока годности.

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА» направлять по адресу предприятия-изготовителя: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Россия, Новосибирская область, р.п. Кольцово, ул. Садовая, 2/7, тел.: +7 (383) 209 34 54, info@imbian.ru, www.imbian.ru

14. Форма подачи рекламаций

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставить:

- рекламационный набор реагентов с сопроводительным письмом, содержащим информацию о выявленных несоответствиях;
- исследуемые образцы;
- протоколы исследований, выполненных другим методом (указать наименование, серию, срок годности набора);
- протоколы исследований, выполненных референсным набором (указать наименование, серию, срок годности набора).

Таблица 7. Символы маркировки

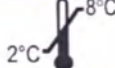
Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Использовать до		Не использовать повторно
	Дата изготовления		Осторожно! Обратитесь к сопроводительной документации
	Код партии		Не допускать воздействия солнечного света
	Каталожный номер		Содержимого достаточно для 96 определений
	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Биологический риск
	Температурный диапазон		Не использовать при поврежденной упаковке
	Беречь от влаги		
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

Таблица 8. Штрих-код Набора «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА»

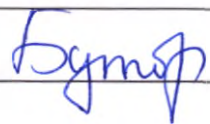
№ комплекта	Штрих-код
Комплект 1	4 620102 800900
Комплект 2	4 620102 800955
Комплект 3	4 620102 800962

**Краткая схема анализа набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА»,
с использованием термошейкера**

Этап анализа	Процедура этапа анализа.
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета
2	Внести в одну лунку Иммуносорбента 100 мкл K(+) , внести в две лунки Иммуносорбента по 100 мкл K(-)
3	В остальные лунки планшета внести по 80 мкл РРО , а затем по 20 мкл анализируемых образцов
4	Инкубировать в течение 20 мин в термошейкере при 700 об/мин и при температуре 37±1 °С
5	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд
6	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора конъюгата РК
7	Инкубировать в течение 20 мин в термошейкере при 700 об/мин и при температуре 37±1 °С
8	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл ТМБ-субстрата .
10	Инкубировать в течение 10 мин в термошейкере при 700 об/мин и при температуре 37±1 °С
11	Внести в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм, или используя два фильтра: основной (450 нм) и референсный (620-680 нм)

**Краткая схема анализа набора реагентов «ЦМВ-IgM-ИМБИАН-ИФА»,
с использованием термостата**

Этап анализа	Процедура этапа анализа.
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета
2	Внести в одну лунку Иммуносорбента 100 мкл K(+) , внести в две лунки планшета по 100 мкл K(-)
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 80 мкл РРО , а затем по 20 мкл анализируемых образцов
4	Инкубировать в течение 40 мин в термостате при температуре 37±1 °С
5	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд
6	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора конъюгата РК
7	Инкубировать в течение 40 мин в термостате при температуре 37±1 °С
8	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл ТМБ-субстрата
10	Инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре 37±1 °С
11	Внести в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм, или используя два фильтра: основной (450 нм) и референсный (620-680 нм)

Разработал  Д.В. Буторин

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

15 лист 56

Директор ФНЦ ФТМ
М.И. Воскода
"18" 2021

