

СОГЛАСОВАНО

Директор ФИЦ ФТМ



М.И. Воевода

« 03 » 12 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 определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G (IgG) к цитомегаловирусу (ЦМВ) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА)
«ЦМВ IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-108-41390295-2021**

1. НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1. Набор реагентов для определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G (IgG) к цитомегаловирусу (ЦМВ) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) «ЦМВ IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-108-41390295-2021 предназначен для определения индекса авидности антител класса G (IgG) к антигенам цитомегаловируса (далее по тексту ЦМВ) в сыворотке и плазме (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов «ЦМВ IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА» рекомендуется применять:

- для оценки авидности IgG антител к ЦМВ при инфицировании;
- как вспомогательное средство в диагностике цитомегаловирусной инфекции;
- 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 предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1. Состав набора реагентов «ЦМВ IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА» приведен в Таблице 1:

Таблица 1 – Состав набора реагентов «

Название компонента	Описание компонента	Количество
Иммуно-сорбент	Запаянный в фольгированный пакет 96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированными рекомбинантными антигенами ЦМВ.	1 шт.
К_{ВА}(+)	Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий высокоавидные IgG антитела к антигенам ЦМВ. Готов к применению. Прозрачная жидкость желтого цвета	1 флакон (2 мл)
К_{НА}(+)	Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий низкоавидные IgG антитела к антигенам ЦМВ. Готов к применению. Прозрачная жидкость желтого цвета.	1 флакон (2 мл)
К(-)	Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий IgG антитела к ЦМВ. Готов к применению. Прозрачная жидкость синего цвета	1 флакон (2 мл)
ФСБ-Т(x26)	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Требуется разведения	1 флакон (50 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость фиолетового цвета. Готов к использованию.	1 флакон (20 мл)
РК	Раствор конъюгата. Смесь мышиных моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость зеленого цвета. Готов к использованию.	1 флакон (13 мл)
РС	Раствор сравнения. Раствор фосфатно-солевого буфера. Готов к применению. Прозрачная жидкость синего цвета.	1 флакон (7 мл)
ДА	Раствор диссоциирующего агента. Готов к применению. Прозрачная жидкость желтого цвета.	1 флакон (7 мл)
ТМБ	Раствор ТМБ. Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (13 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (20 мл)
Пленка для заклеивания планшета		4 шт.
Инструкция по использованию набора реагентов		1 шт.

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

2.2. Число анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на 48 определений (каждый образец необходимо исследовать дважды), 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 трехстадийный иммуноферментный анализ. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы рекомбинантные антигены к цитомегаловирусу (ЦМВ). В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы (каждый образец в две лунки). Затем в лунку с образцом добавляют раствор сравнения, а в другую лунку с тем же образцом добавляют раствор диссоциирующего агента. При наличии в образцах специфических IgG антител к цитомегаловирусу образуется комплекс (антиген-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с раствором конъюгата (вторичные антитела к IgG человека, меченые пероксидазой хрена). При добавлении раствора ТМБ в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением Стоп-реагента. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная индексу авидности IgG к антигенам цитомегаловирусу в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

3. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1. Аналитические характеристики

3.1.1. Чувствительность набора реагентов

Чувствительность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-ЦМВ IgG Авидность контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ) составляет 100% без ложноотрицательных результатов.

3.1.2. Специфичность набора реагентов

Специфичность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-ЦМВ IgG Авидность контрольная панель сывороток» (ФИЦ ФТМ) составляет 100% без ложноположительных результатов.

3.1.3. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний повторяемость определялась для трех положительных образцов в 30 повторах на трех сериях набора реагентов «ЦМВ IgG Авидность-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 IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА» не превысил 8%.

3.1.4. Воспроизводимость

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

3.1.5. Правильность

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

3.2. Диагностические характеристики

3.2.1. Перекрестная реактивность

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 68 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ, не содержащих антитела к ЦМВ и содержащие антитела к различным инфекционным агентам: вирусу Эпштейна-Барра, вирусу ветряной оспы (Varicella Zoster), вирусу герпеса 6, 8 типов, вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, вирусу папилломы человека, а так же от беременных женщин.

Результаты ИФА показали, что неспецифические взаимодействия рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 с антителами различных инфекционных агентов маловероятны.

3.2.2. Интерферирующие вещества

В рамках клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа набора «ЦМВ IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА» проводили на образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих IgG антител к ВПГ-1,2 типов.

На результат анализа не оказывают гемоглобин (от 100 до 300 г/л), холестерин (от 1,5 до 4 г/л), общий белок (от 60 до 150 г/л), глюкоза (от 800 до 2000 мг/л), триглицериды (от 1,5 до 10 г/л), этанол (от 100 до 2000 мг/л), мочевины (от 90 до 800 мг/л), молочная кислота (от 63 до 400 мг/л) и общий билирубин (от 10 до 300 мг/л) в клинических образцах.

3.2.3. Эквивалентность

В рамках проведения внутренних испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «ЦМВ IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке анализа на сыворотке и плазме крови человека (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия), полученных от одного и того же пациента проводили на образцах сыворотки крови человека, не содержащих и содержащих антитела к ВПГ-1,2 методом ИФА при постановке по процедуре №1 и процедуре №2.

Во клинических испытаниях была продемонстрирована эквивалентность сыворотке к плазме крови человека (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия).

3.2.4. Диагностическая чувствительность набора реагентов

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

3.2.5. Диагностическая специфичность набора реагентов

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность выявления IgG антител к цитомегаловирусу определяли на 278 отрицательных образцах, показана 100 % специфичность (ДВ 95%, ДИ: 98,92% - 100%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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 26.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». При работе с набором реагентов требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

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

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

Сыворотки крови человека, использованные для приготовления положительных контролей, инаktivированы нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч, содержат IgG антитела к антигенам ЦМВ человека и не содержат антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

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 антигенам ЦМВ, антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

В состав компонентов К_{ВА}(+), К_{НА}(+), К(-), ФСБ-Т(х26), РРО, РК, РС, ДА, ТМБ, входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. К_{ВА}(+), К_{НА}(+), К(-) и РРО, РС, ДА содержит 0,1% проклина-300; РК – 0,1% фенола; ФСБ-Т(х26) и ТМБ – 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием, за счет кислоты серной (5%) 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 являются нетоксичными.

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

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-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

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.

Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70 % раствором этилового спирта или другим разрешенным к применению антисептическим средством.

5. ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ

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

Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

Не использовать реагенты других производителей.

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

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

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

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

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

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

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

Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

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

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

Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую после промывки, для раствора конъюгата РК и раствора ТМБ.

Рекомендуется для отбора раствора конъюгата (РК) и раствора ТМБ 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.

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 планги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.

Для исключения контаминации образцов друг другом и КвА(+), КнА(+) требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Перечень оборудования и материалов, необходимых для постановки анализа:

- 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 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ или 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);
- 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;
- емкость с крышкой для жидкого дезинфицирующего средства;
- вода дистиллированная или деионизированная;
- бумага фильтровальная;
- таймер;
- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;
- лабораторная посуда.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца – 10 мкл.

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

Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27°C) 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.

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

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

8.2. Постановка анализа с использованием Набора реагентов должна быть проведена в нормальных климатических условиях и показателях внешней среды, указанных в таблице 2.

Таблица 2. Условия внешней среды для постановки анализа

№ п/п	Показатели	Значения
1	Температура воздуха	18-25°C
2	Относительная влажность	40-60%

8.3. Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный Иммуносорбент. Все компоненты необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут.

Внимание!

К_{ВА}(+), К_{НА}(+), К(-), ФСБ-Т(х26), РРО, РК, РС, ДА, ТМБ и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные К_{ВА}(+), К_{НА}(+), К(-), ФСБ-Т(х26), РРО, РК, РС, ДА, ТМБ и Стоп-реагент хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

ФСБ-Т(х26) представлен в виде концентрата. Требуется разведение.

8.4. 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 70% этиловым спиртом, затем дистиллированной (деионизированной) водой. Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

8.5. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора (ФСБ-Т (х26)) возможно выпадение осадка солей. При наличии осадка во флаконе с ФСБ-Т (х26) выдержать при температуре 37±1°C до полного растворения солей.

Содержимое флакона с ФСБ-Т (х26) перелить в мерный цилиндр подходящего объема и довести объем раствора до 1250 мл водой дистиллированной (деионизированной).

При использовании одного или нескольких стрипов Иммуносорбента необходимое количество рабочего промывочного раствора ФСБ-Т приготовить в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3. Таблица соответствия объемов ФСБ-Т (х26) и воды дистиллированной (деионизированной) для приготовления рабочего промывочного раствора ФСБ-Т.

Количество используемых стрипов, шт.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т (х26), мл	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Вода*, мл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200

Примечание: *вода дистиллированная или деионизированная

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранить при температуре от 18 до 28°C не более 10 дней или при температуре от 2 до 8°C не более 45 дней.

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.2. Рекомендуемая схема постановки анализа приведена в таблице 4.

Таблица 4. Рекомендуемая схема постановки анализа (при использовании 12 стрипов).

K _{BA} (+)	5	13	21	29	37	K _{BA} (+)	5	13	21	29	37
K _{HA} (+)	6	14	22	30	38	K _{HA} (+)	6	14	22	30	38
K(-)	7	15	23	31	39	K(-)	7	15	23	31	39
K(-)	8	16	24	32	40	K(-)	8	16	24	32	40
1	9	17	25	33	41	1	9	17	25	33	41
2	10	18	26	34	42	2	10	18	26	34	42
3	11	19	27	35	43	3	11	19	27	35	43
4	12	20	28	36	44	4	12	20	28	36	44
Контрольные лунки — лунки для внесения раствора сравнения РС						Диссоциирующие лунки — лунки для внесения раствора ДА					

Вариант №1 (использование термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	
2	Внести в две лунки 100 мкл K_{BA}(+), K_{HA}(+) и K(-) .	Для удобства постановки рекомендуем вносить поэтапно сначала по одной лунке каждого контроля и образца, затем вносить по второй лунке контролей и каждого образца.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл буферного раствора РРО , а затем по 10 мкл анализируемых образцов в двух повторах. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Смотри рекомендуемую схему постановке в таблице №2
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 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. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмычки — 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	В соответствии с таблицей №2 в половину лунок Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора РС , а в другую половину внести по 100 мкл раствора ДА , так чтобы в лунках с каждым контролем и образцом был и раствор РС, и раствор ДА.	Время внесения раствора РС и ДА при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.

	Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$.	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки — 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора РК. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения раствора РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$.	
11	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки — 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
12	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ.	Время внесения раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
13	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$.	
14	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
15	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.

Процедура №2 (использование термостата)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	

2	Внести в две лунки 100 мкл К_{ва}(+), К_{на}(+) и К(-) .	Для удобства постановки рекомендуем вносить поэтапно сначала по одной лунке каждого контроля и образца, затем вносить по второй лунке контролей и каждого образца.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл буферного раствора РРО , а затем по 10 мкл анализируемых образцов в двух повторах. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Смотри рекомендуемую схему постановке в таблице №2
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать термостат; температура инкубации: 37± 1°C.	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки — 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	В половину лунок Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора РС , а в другую половину внести по 100 мкл раствора ДА , так чтобы в лунках с каждым контролем и образцом был и раствор РС и раствор ДА. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения раствора РС и ДА при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат; температура инкубации: 37± 1°C.	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки — 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения раствора РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать термостат; температура инкубации: 37± 1°C	
11	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки — 30	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и

	секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	внесением реагентов.
12	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ.	Время внесения раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
13	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат; температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$.	
14	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
15	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.

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

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. Показатели правильности

10.1.1. Для определения достоверности полученных результатов теста находят среднее значение ОП в лунках с К(-)РС, К(-)ДА, и рассчитывают среднее значение ОП_{К(-)ср} по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{К(-)ср}} = \frac{\text{ОП К(-)РС} + \text{ОП К(-)ДА}}{2}$$

Далее рассчитывают критический уровень по формуле:

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

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

10.1.2. Значение ОП в лунке с К_{ВА}(+) с раствором РС должно быть не менее 0,500.

10.1.3. Значение ОП в лунке с К_{НА}(+) с раствором РС должно быть не менее ОП_{крит}.

10.1.4. Среднее значение ОП К(-)РС в лунках с РС должно быть не более 0,200.

10.1.5. Далее рассчитывают индекс авидности ИА для К_{ВА}(+) рассчитанный нижеприведённой формуле, должен быть не менее 50%:

$$\text{ИА}_{\text{ВА}} = \frac{\text{ОП}_{\text{К}_{\text{ВА}}(+)}^{\text{в лунке с ДА}}}{\text{ОП}_{\text{К}_{\text{ВА}}(+)}^{\text{в лунке с РС}}} \times 100\%$$

10.1.6. Индекс авидности ИА(%) для К_{НА}(+) рассчитанный нижеприведённой формуле, должен быть не более 30%:

$$\text{ИА}_{\text{НА}} = \frac{\text{ОП}_{\text{К}_{\text{НА}}(+)}^{\text{в лунке с ДА}}}{\text{ОП}_{\text{К}_{\text{НА}}(+)}^{\text{в лунке с РС}}} \times 100\%$$

Если полученные значения ОП и ИА не соответствуют критериям достоверности теста, результаты теста не учитывают. Исследование проводят повторно.

10.2. Интерпретация результатов

Если в результате анализа ОП анализируемого образца меньше ($<$) ОП_{крит.}, результат исследования образца считают отрицательным: IgG антитела к антигену ЦМВ не обнаружены.

Если в результате анализа ОП анализируемого образца больше или равна ($\geq$) ОП_{крит.}, результат исследования образца считают положительным: IgG антитела к антигену ЦМВ обнаружены.

Для анализируемых образцов необходимо рассчитать индекс avidности ИА по формуле:

$$\text{ИА} = \frac{\text{ОП}_{\text{обр}} \text{ в лунке с ДА}}{\text{ОП}_{\text{обр}} \text{ в лунке с РС}} \times 100\%;$$

– Если значение ИА менее 30% — IgG антитела к антигену ЦМВ в анализируемом образце обладают низкой avidностью;

– если значение ИА лежит в пределах от 30% до 50% — IgG антитела к антигену ЦМВ в анализируемом образце обладают средней avidностью;

– если значение ИА более 50% — IgG антитела к антигену ЦМВ в анализируемом образце обладают высокой avidностью.

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 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».

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 разукрупнять.

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 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).

13. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в таблице 5.

Таблица 5. Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов

Параметр	Период	Условия
Срок годности набора реагентов	24 месяцев	Хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Замораживание не допускается.
Транспортировка	В течение срока годности	При температуре от 2 до 8°C.
	7 суток	При температуре от 9 до 28°C.
Вскрытые компоненты: К _{НА} (+), К _{ВА} (+), К(-), ФСБ-Т (x26), РРО, РК, РС, ДА, ТМБ, 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°C.
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	Не более 10 дней	При температуре от 18 до 28°C.
	Не более 45 дней	При температуре от 2 до 8°C.

14. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «ЦМВ IgG Авидность-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 IgG Авидность-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

15. 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).

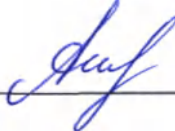
16. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

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 48 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		

17. ШТРИХКОД Набора реагентов для определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G (IgG) к цитомегаловирусу (ЦМВ) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) «ЦМВ IgG Авидность-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-108-41390295-2021: **4 620102 802423**

Разработал

 А.В. Буторина



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 16 из 26

Директор ФИЦ ФТМ

М.И. Воевода

"13" 12 2021 г