"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

_____ В.Ю.Борисов
02" ноября 2016 г.

# ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов**
**«Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга»**

# «ИФА-Блот-ЦМВ-IgG»

*Регистрационное удостоверение №…… от …… г.*

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга» "ИФА-Блот-ЦМВ-IgG" предназначен для выявления антител класса G к индивидуальным белкам ЦМВ в сыворотке и плазме крови человека методом иммунного блоттинга (формат "Вестерн-Блот").

## СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

**Таблица 1**

| | | |
|---|---|---|
| Иммуносорбент | полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны с сорбированными на них методом электропереноса индивидуальными белками (антигенами) ЦМВ: pp 150, pp 130, gp 75, pp 65, gp 55, pp52, p 38, pp 28; в виде контрольной линии нанесены антитела против IgG человека – для контроля правильности проведения реакции (стрипы – в пластиковом контейнере с крышкой) | 24 стрипа |
| Конъюгат | козьи антитела против иммуноглобулинов G человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой; непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании | 2 фл. (по 30 мл) |
| Окрашивающий раствор | 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий; прозрачная светло-зеленого цвета жидкость | 2 фл. (по 30 мл) |
| 5-кратный концентрат промывочного раствора [**ПР(х5)**] | непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании | 3 фл. (по 50 мл) |
| Раствор для разведения сывороток (**РРС**) | непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании | 2 фл. (по 30 мл) |
| *Референс-стрип (или его фотография)* | *полоска (стрип) из нитроцеллюлозной мембраны белого цвета, шириной 2,4±0,1 мм, длиной 11,5±0,5 см проявленным в ИФА белковым профилем антигена ЦМВ (pp 150, pp 130, gp 75, pp 65, gp 55, pp52, p 38, pp 28), закрепленная на бумажной подложке размером 7,0х10,0* | 1 шт. |

*Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА.*

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

*кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.*

2. *Допускается использование неспецифических реагентов (окрашивающий раствор, ПР(х5)) разных серий набора или их смешение.*

Набор дополнительно комплектуется принадлежностями:

ванночками пластмассовыми с 6 лунками для проведения реакции размером 166 х 107 мм, ПВХ – 4 шт., пинцетом пластиковым– 1 шт.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

## ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации позволяет одномоментное исследование 24 образцов. Предусмотрена возможность проведения раздельных исследований с использованием необходимого количества стрипов.

## ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

В основе теста лежит метод непрямого иммуноферментного анализа на нитроцеллюлозной мембране, на которую методом электропереноса нанесены основные индивидуальные белки ЦМВ, полученные при электрофоретическом разделении лизатного антигена ЦМВ.

Антитела к ЦМВ (при их наличии в исследуемом образце) связываются с индивидуальными белками ЦМВ, сорбированными на стрипе. Полученные комплексы затем связываются с конъюгатом, ферментативная активность которого приводит к появлению окрашенных полос на стрипах в зонах локализации соответствующих индивидуальных белков ЦМВ.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

**Аналитическая чувствительность** набора определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, содержащих антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека ($СОП^{+}_{ЦМВ-G}$-219), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

**Аналитическая специфичность** набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих антитела класса G ($СОП^{-}_{ЦМВ-G}$ -219), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

**Диагностическая чувствительность**

Статистическая достоверность результатов диагностической чувствительности испытаний составила:

| Заключение | Общее число клинических образцов с истинно положительными результатами анализа (n) | Негативный результат | Позитивный результат | Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%) |
|---|---|---|---|---|
| Положительных по антителам класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 970 | 0 | 970 | 99,76% - 100% |

Статистическая достоверность диагностической чувствительности для каждого вида биологического материала составила:

| Вид клинического материала | Количество образцов от пациентов | | Общее количество образцов от пациентов | Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%), не менее % |
|---|---|---|---|---|
| | При проведении клинических испытаний | По результатам внутренних лабораторных испытаний | | |
| сыворотки, содержащие | 50 | 380 | 430 | 99,47 |

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| индивидуальным белкам цитомегаловируса | | | | |
| образцы плазмы, содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса с гепарином | 50 | 130 | 180 | 98,73 |
| образцы плазмы, содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса с ЭДТА | 50 | 130 | 180 | 98,73 |
| образцы плазмы, содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса с цитратом натрия | 50 | 130 | 180 | 98,73 |

Оценка результатов:

Полученные результаты показали, что диагностическая чувствительность для клинических образцов составила:

| Клинический материал | Заключение | Результаты испытаний |
|---|---|---|
| | | Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%) |
| **Сыворотка крови** | Выявлены антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 99,47% - 100% |
| **Плазма крови** | Выявлены антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 98,73% - 100% |

**Диагностическая специфичность**

Статистическая достоверность результатов диагностической специфичности испытаний составила:

| Заключение | Общее число клинических образцов с истинно отрицательными результатами анализа (n) | Негативный результат | Позитивный результат | Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %) |
|---|---|---|---|---|
| Отрицательных по антителам класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 1390 | 1390 | 0 | 99,83% - 100% |

Статистическая достоверность диагностической специфичности для каждого вида биологического материала составила:

| Вид клинического материала | Количество образцов от пациентов | | Общее количество образцов от | Диагностическая специфичность (с доверительной |
|---|---|---|---|---|
| | При | По результатам | | |

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | проведении клинических испытаний | внутренних лабораторных испытаний | пациентов | вероятностью 95%), не менее % |
| сыворотки, не содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 50 | 380 | 430 | 99,47 |
| сыворотки, содержащие антитела к гепатиту В и не содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 10 | 130 | 140 | 98,37 |
| сыворотки, содержащие антитела к гепатиту С и не содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 10 | 130 | 140 | 98,37 |
| сыворотки, содержащие антитела к Treponema pallidum и не содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 10 | 130 | 140 | 98,37 |
| образцы плазмы, не содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса с гепарином | 50 | 130 | 180 | 98,73 |
| образцы плазмы, не содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса с ЭДТА | 50 | 130 | 180 | 98,73 |
| образцы плазмы, не содержащие антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса с цитратом натрия | 50 | 130 | 180 | 98,73 |

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Оценка результатов:

Полученные результаты показали, что диагностическая специфичность для клинических образцов составила:

| Клинический материал | Заключение | Результаты испытаний |
|---|---|---|
| | | Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%) |
| **Сыворотка крови** | Не выявлены антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 98,37% - 100% |
| **Плазма крови** | Не выявлены антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса | 98,73% - 100% |

## ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Тест следует проводить с цельной сывороткой или плазмой (гепарин, ЭДТА, цитрат натрия) крови человека объемом не менее 20 мкл, в которой по результатам предварительного скринингового исследования обнаружены антитела класса G к ЦМВ.

Образцы сыворотки (плазмы) следует хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 7 сут; для более длительного хранения образцы должны храниться при температуре минус 20 °С в течении 6 мес.

Допускается двукратное замораживание-оттаивание исследуемых образцов. После размораживания образцы сыворотки (плазмы) крови следует отцентрифугировать при 3000 об/мин в течение 10-15 мин.

Исследование образцов с выраженным гемолизом, бактериальным проростом, а также длительно хранившихся без замораживания, не допускается

Если образцы необходимо транспортировать, они должны быть упакованы в соответствии с правилами транспортировки инфекционного материала.

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами не обходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными. Класс А – эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам (ТБО).

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

## СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Качество полученных результатов зависит от соблюдения следующих правил:

- перед использованием набор реагентов следует выдержать при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) не менее 30 мин;
- при работе со стрипами пользоваться резиновыми перчатками и пластмассовым пинцетом; прикосновение пальцев может оставить пятна.

**Оборудование и материалы**

- Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).
- Градуированные цилиндры на 50 мл, 100 мл, 250 мл, 500 мл.
- Автоматические или полуавтоматические пипетки с переменным или постоянным объемом, позволяющие дозировать 20 мкл и 2,0 мл.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- Наконечники одноразовые на 0,5-250 мкл и 1-5 мл.
- Шейкер-качалка с углом наклона платформы 6-8° и частотой качания 30-40 об/мин, или орбитальный шейкер с диаметром орбиты 10-22 мм и частотой вращения 90-160 об/мин, или орбитальный шейкер на 20-60 об/мин.
- Одноразовые перчатки.
- Вакуумный насос для отсасывания жидкости с герметичной емкостью для отходов.
- 6% раствор перекиси водорода.
- Фильтровальная бумага.
- Пластмассовый пинцет.

**Подготовка рабочих реагентов.**

Иммуносорбент, окрашивающий раствор, РРС, конъюгат готовы к применению.

*Приготовление рабочего промывочного раствора*

ПР(х5) развезти водой очищенной, используя соотношения реагентов, указанные в табл. 5.

Таблица 5

| Реагент | Ед. изм. | Объем компонента при использовании …. стрипов | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 | 12 | 18 | 24 |
| ПР(х5) | мл | 20 | 40 | 60 | 80 |
| Вода очищенная | мл | 80 | 160 | 240 | 320 |

Рабочий промывочный раствор стабилен при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 мес.

**Проведение анализа методом иммунного блоттинга**

1. Вскрыть упаковку стрипов. Осторожно, пластмассовым пинцетом, переложить стрипы маркированной стороной вверх в лунки ванночек для проведения иммунного блоттинга, чтобы стрипы с нанесенными вирусными белками были покрыты растворами реагентов в течение всего исследования. Лунки ванночек промаркировать в соответствии с номерами исследуемых образцов.

2. Внести в каждую лунку ванночки по 2,0 мл РРС и инкубировать 5 мин при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере

3. Добавить по 20 мкл каждого из исследуемых образцов в соответственно промаркированные лунки. Инкубировать в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере.

4. После инкубации, используя вакуумный насос, полностью удалить жидкость из каждой лунки в емкость с дезинфицирующим раствором. Следует соблюдать осторожность, чтобы при отсасывании жидкости из лунок не выпал стрип. Наконечник отсасывающего устройства после каждого контакта с различными образцами сывороток следует промыть очищенной водой или использовать для каждого образца отдельный одноразовый наконечник во избежание перекрестной контаминации.

5. Внести в каждую лунку по 2,0 мл рабочего промывочного раствора и промыть стрипы в течение 5 мин, на шейкере. Промывку выполнить 3 раза. После последней промывки раствор удалить из лунок.

6. Внести в каждую лунку по 2,0 мл коньюгата. Инкубировать в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере.

7. 3 раза промыть каждый стрип, как указано в п. 5.

***Внимание!*** **Недостаточная промывка на этом этапе может привести к появлению на стрипе темного фона.**

8. Внести в каждую лунку по 2,0 мл окрашивающего раствора. Инкубировать в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере 10 мин.

9. Для остановки реакции удалить из лунок окрашивающий раствор и промыть стрипы 3 раза очищенной водой, наливая в каждую лунку по 2,0 мл воды.

10. Осторожно, пинцетом, извлечь стрипы из лунок ванночки. Осушить стрипы между двумя листами фильтровальной бумаги при комнатной температуре. Расположить их

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

маркированной стороной кверху для оценки результатов

## УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

***Перечень индивидуальных белков, входящих в состав ЦМВ***

Присутствие в образце сыворотки (плазмы) крови человека антител к белкам ЦМВ обнаруживается по появлению окрашенных полос. Их расположение соответствует молекулярным массам белков, указанным в табл. 6.

Таблица 6

| Белок (антиген) | Продукт гена | Описание | Визуальная характеристика окрашенной полосы на стрипе |
|---|---|---|---|
| pp 150 | UL32 | Фосфопротеин оболочки вируса | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| pp 130 | UL57 | Неструктурный фосфопротеин вируса | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| gp 75 | UL82 | Гликопротеин Н антиген gH | Полоса тёмно-фиолетового цвета с диффузными границами |
| pp 65 | UL83 | Фосфопротеин тегумента | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| gp 55 | UL55 | Гликопротеин В антиген gB | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| pp 52 | UL44 | ДНК-связывающий фосфопротеин | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| p 38 | UL38 | Структурный фосфопротеин | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| pp 28 | UL99 | Фосфопротеин тегумента капсида | Диффузная полоса с краями тёмно-фиолетового цвета |

**Интерпретация результатов**

Антигены ЦМВ, в зависимости от их способности вызывать иммунный ответ, подразделяются на три класса:

| Класс | Свойства | Антигены |
|---|---|---|
| 1 | Перекрестно-реагирующие | pp 65 |
| 2 | Низко специфичные | gp 75, gp 55, pp 52, p 38 |
| 3 | Высоко специфичные | pp 150, pp 130, pp 28 |

Результаты, полученные после проведения анализа могут быть разделены на положительные, неопределенные (сомнительные) и отрицательные.

| Результат | Описание |
|---|---|
| Положительный | Как минимум одна полоса класса 3, в дополнение несколько полос класса 1 и 2. |
| Неопределенный | Слабая полоса класса 3 или более чем одна полоса класса 2. |
| Отрицательный | Отсутствие полос. Полосы, несоответствующие белкам ЦМВ. Одна полоса класса 1 или одна слабая полоса класса 2. |

Неопределенный результат может означать, что:

- образец получен в период сероконверсии;

-наблюдается неспецифическая реакция, вызванная наличием антител к другим герпесвирусам.

## СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

## ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

**Хранение**

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.



ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

**Транспортирование**

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

## УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

## ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

По вопросам, касающимся качества и обращения набора **«ИФА-БЛОТ-ЦМВ-IgG»**, следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1, тел: (49643)3-1374, 3-2311, факс 3-3143

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус
«2» ноября 2016 г.

## КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ
## ИФА-Блот-ЦМВ-IgG

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией

| | |
|---|---|
| **Внести** | в лунки ванночек по одному стрипу для каждого контрольного и исследуемого образца;<br>в каждую лунку – по 2 мл РРС |
| **Инкубация** | 5 мин, 18-25 °С, на шейкере |
| **Внести** | по 20 мкл исследуемых образцов |
| **Инкубация** | 30 мин, 18-25 °С, на шейкере |
| **Промыть** | 3 раза ПР |
| **Внести** | в каждую лунку по 2,0 мл коньюгата |
| **Инкубация** | 30 мин, 18-25 °С, на шейкере |
| **Промыть** | 3 раза ПР |
| **Внести** | в каждую лунку по 2,0 мл окрашивающего раствора |
| **Инкубация** | 10 мин, 18-25 °С, на шейкере |
| **Промыть** | 3 раза водой очищенной |
| Высушить стрипы между листов фильтровальной бумаги и зарегистрировать результаты | |

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
1 лист 06
Начальник ОНД ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
"2" ноября 2016 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

_____ В.Ю.Борисов
"10" мая 2016 г.

# ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов**

**«Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга»**

# «ИФА-Блот-ЦМВ-IgG»

*Регистрационное удостоверение №…… от …… г.*

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга» "ИФА-Блот-ЦМВ-IgG" предназначен для выявления антител класса G к индивидуальным белкам ЦМВ в сыворотке и плазме крови человека методом иммунного блоттинга (формат "Вестерн-Блот") – тест, подтверждающий выявление антител к ЦМВ.

## СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

**Таблица 1**

| | | |
|---|---|---|
| Иммуносорбент | полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны с сорбированными на них методом электропереноса индивидуальными белками (антигенами) ЦМВ: pp 150, pp 130, gp 75, pp 65, gp 55, pp52, p 38, pp 28; в виде контрольной линии нанесены антитела против IgG человека – для контроля правильности проведения реакции (стрипы – в пластиковом контейнере с крышкой) | 24 стрипа |
| Конъюгат | козьи антитела против иммуноглобулинов G человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой; непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании | 2 фл. (по 30 мл) |
| Окрашивающий раствор | 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий; прозрачная светло-зеленого цвета жидкость | 2 фл. (по 30 мл) |
| 5-кратный концентрат промывочного раствора [**ПР(х5)**] | непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании | 3 фл. (по 50 мл) |
| Раствор для разведения сывороток (**РРС**) | непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании | 2 фл. (по 30 мл) |
| Референс-стрип (или его фотография) | полоска (стрип) из нитроцеллюлозной мембраны белого цвета, шириной 2,4±0,1 мм, длиной 11,5±0,5 см проявленным в ИФА белковым профилем антигена ЦМВ (pp 150, pp 130, gp 75, pp 65, gp 55, pp52, p 38, pp 28), закрепленная на бумажной подложке размером 7,0x10,0 | 1 шт. |

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

*Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.*

*2. Допускается использование неспецифических реагентов (окрашивающий раствор, ПР(х5)) разных серий набора или их смешение.*

Набор дополнительно комплектуется принадлежностями:

ванночками пластмассовыми с 6 лунками для проведения реакции, размером 166 х 107 мм, ПВХ– 4 шт., пинцетом пластиковым– 1 шт.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

## ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации позволяет одномоментное исследование 24 образцов. Предусмотрена возможность проведения раздельных исследований с использованием необходимого количества стрипов.

## ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

В основе теста лежит метод непрямого иммуноферментного анализа на нитроцеллюлозной мембране, на которую методом электропереноса нанесены основные индивидуальные белки ЦМВ, полученные при электрофоретическом разделении лизатного антигена ЦМВ.

Антитела к ЦМВ (при их наличии в исследуемом образце) связываются с индивидуальными белками ЦМВ, сорбированными на стрипе. Полученные комплексы затем связываются с конъюгатом, ферментативная активность которого приводит к появлению окрашенных полос на стрипах в зонах локализации соответствующих индивидуальных белков ЦМВ.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

**Аналитическая чувствительность** набора определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, содержащих антитела класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека ($СОП^{+}_{ЦМВ-G}$-219), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

**Аналитическая специфичность** набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих антитела класса G ($СОП^{-}_{ЦМВ-G}$ -219), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

## ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Тест следует проводить с цельной сывороткой или плазмой крови человека, в которой по результатам предварительного скринингового исследования обнаружены антитела класса G к ЦМВ.

Образцы сыворотки (плазмы) следует хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 7 сут; для более длительного хранения образцы должны храниться при температуре минус 20 °С.

Допускается двукратное замораживание-оттаивание исследуемых образцов. После размораживания образцы сыворотки (плазмы) крови следует отцентрифугировать при 3000 об/мин в течение 10-15 мин.

Исследование образцов с выраженным гемолизом, бактериальным проростом, а также длительно хранившихся без замораживания, не допускается

Если образцы необходимо транспортировать, они должны быть упакованы в соответствии с правилами транспортировки инфекционного материала.

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами не обходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ 287-113 "Методические указания по

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

инфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

## СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Качество полученных результатов зависит от соблюдения следующих правил:

- перед использованием набор реагентов следует выдержать при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) не менее 30 мин;
- при работе со стрипами пользоваться резиновыми перчатками и пластмассовым пинцетом; прикосновение пальцев может оставить пятна.

**Оборудование и материалы**

- Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).
- Градуированные цилиндры на 50 мл, 100 мл, 250 мл, 500 мл.
- Автоматические или полуавтоматические пипетки с переменным или постоянным объемом, позволяющие дозировать 20 мкл и 2,0 мл.
- Наконечники одноразовые на 0,5-250 мкл и 1-5 мл.
- Шейкер-качалка с углом наклона платформы 6-8° и частотой качания 30-40 об/мин, или орбитальный шейкер с диаметром орбиты 10-22 мм и частотой вращения 90-160 об/мин, или орбитальный шейкер на 20-60 об/мин.
- Одноразовые перчатки.
- Вакуумный насос для отсасывания жидкости с герметичной емкостью для отходов.
- 6% раствор перекиси водорода.
- Фильтровальная бумага.
- Пластмассовый пинцет.

**Подготовка рабочих реагентов.**

Иммуносорбент, окрашивающий раствор, РРС, конъюгат готовы к применению.

*Приготовление рабочего промывочного раствора*

ПР(х5) развезти водой очищенной, используя соотношения реагентов, указанные в табл. 5.

Таблица 5

| Реагент | Ед. изм. | Объем компонента при использовании …. стрипов | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 | 12 | 18 | 24 |
| ПР(х5) | мл | 20 | 40 | 60 | 80 |
| Вода очищенная | мл | 80 | 160 | 240 | 320 |

Рабочий промывочный раствор стабилен при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 мес.

**Проведение анализа методом иммунного блоттинга**

1. Вскрыть упаковку стрипов. Осторожно, пластмассовым пинцетом, переложить стрипы маркированной стороной вверх в лунки ванночек для проведения иммунного блоттинга, чтобы стрипы с нанесенными вирусными белками были покрыты растворами реагентов в течение всего исследования. Лунки ванночек промаркировать в соответствии с номерами исследуемых образцов.

2. Внести в каждую лунку ванночки по 2,0 мл РРС и инкубировать 5 мин при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере

3. Добавить по 20 мкл каждого из исследуемых образцов в соответственно промаркированные лунки. Инкубировать в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере.

4. После инкубации, используя вакуумный насос, полностью удалить жидкость из каждой лунки в емкость с дезинфицирующим раствором. Следует соблюдать осторожность, чтобы при отсасывании жидкости из лунок не выпал стрип. Наконечник отсасывающего устройства после каждого контакта с различными образцами сывороток следует промыть

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

щенной водой или использовать для каждого образца отдельный одноразовый наконечник во избежание перекрестной контаминации.

5. Внести в каждую лунку по 2,0 мл рабочего промывочного раствора и промыть стрипы в течение 5 мин, на шейкере. Промывку выполнить 3 раза. После последней промывки раствор удалить из лунок.

6. Внести в каждую лунку по 2,0 мл коньюгата. Инкубировать в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере.

7. 3 раза промыть каждый стрип, как указано в п. 5.

***Внимание!*** **Недостаточная промывка на этом этапе может привести к появлению на стрипе темного фона.**

8. Внести в каждую лунку по 2,0 мл окрашивающего раствора. Инкубировать в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С, на шейкере 10 мин.

9. Для остановки реакции удалить из лунок окрашивающий раствор и промыть стрипы 3 раза очищенной водой, наливая в каждую лунку по 2,0 мл воды.

10. Осторожно, пинцетом, извлечь стрипы из лунок ванночки. Осушить стрипы между двумя листами фильтровальной бумаги при комнатной температуре. Расположить их маркированной стороной кверху для оценки результатов

## УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

***Перечень индивидуальных белков, входящих в состав ЦМВ***

Присутствие в образце сыворотки (плазмы) крови человека антител к белкам ЦМВ обнаруживается по появлению окрашенных полос. Их расположение соответствует молекулярным массам белков, указанным в табл. 6.

Таблица 6

| Белок (антиген) | Продукт гена | Описание | Визуальная характеристика окрашенной полосы на стрипе |
|---|---|---|---|
| pp 150 | UL32 | Фосфопротеин оболочки вируса | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| pp 130 | UL57 | Неструктурный фосфопротеин вируса | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| gp 75 | UL82 | Гликопротеин Н антиген gH | Полоса тёмно-фиолетового цвета с диффузными границами |
| pp 65 | UL83 | Фосфопротеин тегумента | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| gp 55 | UL55 | Гликопротеин В антиген gB | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| pp 52 | UL44 | ДНК-связывающий фосфопротеин | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| p 38 | UL38 | Структурный фосфопротеин | Четкая полоса тёмно-фиолетового цвета |
| pp 28 | UL99 | Фосфопротеин тегумента капсида | Диффузная полоса с краями тёмно-фиолетового цвета |

**Интерпретация результатов**

Антигены ЦМВ, в зависимости от их способности вызывать иммунный ответ, подразделяются на три класса:

| Класс | Свойства | Антигены |
|---|---|---|
| 1 | Перекрестно-реагирующие | pp 65 |
| 2 | Низко специфичные | gp 75, gp 55, pp 52, p 38 |
| 3 | Высоко специфичные | pp 150, pp 130, pp 28 |

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Результаты, полученные после проведения анализа могут быть разделены на положительные, неопределенные (сомнительные) и отрицательные.

| Результат | Описание |
|---|---|
| Положительный | Как минимум одна полоса класса 3, в дополнение несколько полос класса 1 и 2. |
| Неопределенный | Слабая полоса класса 3 или более чем одна полоса класса 2. |
| Отрицательный | Отсутствие полос. Полосы, несоответствующие белкам ЦМВ. Одна полоса класса 1 или одна слабая полоса класса 2. |

Неопределенный результат может означать, что:

- образец получен в период сероконверсии;

-наблюдается неспецифическая реакция, вызванная наличием антител к другим герпесвирусам.

## СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

## ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

**Хранение**

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

**Транспортирование**

При температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

## УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора **«ИФА-БЛОТ-ЦМВ-IgG»**, следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1, тел: (49643)3-1374, 3-2311, факс 3-3143

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

«31» 05 2016 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

## КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ
## ИФА-Блот-ЦМВ-IgG

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией

| | |
|---|---|
| **Внести** | в лунки ванночек по одному стрипу для каждого контрольного и исследуемого образца;<br>в каждую лунку – по 2 мл РРС |
| **Инкубация** | 5 мин, 18-25 $^0$С, на шейкере |
| **Внести** | по 20 мкл исследуемых образцов |
| **Инкубация** | 30 мин, 18-25 $^0$С, на шейкере |
| **Промыть** | 3 раза ПР |
| **Внести** | в каждую лунку по 2,0 мл коньюгата |
| **Инкубация** | 30 мин, 18-25 $^0$С, на шейкере |
| **Промыть** | 3 раза ПР |
| **Внести** | в каждую лунку по 2,0 мл окрашивающего раствора |
| **Инкубация** | 10 мин, 18-25 $^0$С, на шейкере |
| **Промыть** | 3 раза водой очищенной |
| Высушить стрипы между листов фильтровальной бумаги и зарегистрировать результаты | |

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 6 ЛИСТОВ
«31» 05 2016 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ – МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус _____

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU