«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

«10» сентября 2024 г.

М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу в сыворотке (плазме) крови

(ВектоЦМВ-IgG)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВектоЦМВ-IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы, допускается 12 независимых постановок ИФА по 8 образцов, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантного антигена цитомегаловируса. В лунках планшета при добавлении исследуемого образца во время первой инкубации происходит связывание иммуноглобулинов класса G (IgG) к ЦМВ с рекомбинантным антигеном, иммобилизованным на внутренней поверхности лунок и образование комплекса «антиген–антитело». Несвязавшийся материал удаляют отмывкой. Связавшиеся антитела выявляют при инкубации с конъюгатом моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. После второй отмывки количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм, допускается

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором НИИ СД М.Ю. Рукавишниковым и ведущим биотехнологом лаборатории герпес-вирусных инфекций Е.Ю. Косовой

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

измерение при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна концентрации IgG к ЦМВ в анализируемом образце.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) *Описание.*	**Кол-во**
Планшет разборный с иммобилизованным рекомбинантным антигеном ЦМВ	1 шт.
Положительный контрольный образец ($К^+$) *Содержит IgG к ЦМВ.* *Содержит натрия азид (0,12%), ProClin 300 (0,02%).*	1 фл., 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец ($К^-$) *Не содержит IgG к ЦМВ.* *Содержит натрия азид (0,12%), ProClin 300 (0,02%).*	1 фл., 3,0 мл
Конъюгат *Конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена.* *Содержит ProClin 150 (0,0044%), фенол (0,008%).*	1 фл., 13,0 мл
Раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) *Содержит ProClin 300 (0,02%).*	1 фл., 10,0 мл
Раствор для разведения сывороток (РРС) *Содержит ProClin 300 (0,02%).*	1 фл., 12,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) *Содержит ProClin 300 (0,25%).*	2 фл. по 28,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) *Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,025%).*	1 фл., 13,0 мл
Стоп-реагент *Содержит кислоту серную (4,9%).*	1 фл., 12,0 мл
Пленка для заклеивания планшета	2 шт.
Ванночка для реагентов	2 шт.
Наконечники для дозаторов на 5-200 мкл	16 шт.
Планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов	1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность выявления иммуноглобулинов класса G к ЦМВ – соответствие результатов определения набором IgG к ЦМВ требованиям стандартной панели предприятия (СПП 05-2-432) составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с отрицательными образцами №1-№16 меньше величины критического значения оптической плотности ($ОП_{№1-№16} < ОП_{крит}$).

3.2. Чувствительность выявления иммуноглобулинов класса G к ЦМВ – соответствие результатов определения набором IgG к ЦМВ требованиям стандартной панели предприятия (СПП 05-2-432) составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с положительными образцами №17-№24 больше либо равны величине критического значения оптической плотности ($ОП_{№17-№24} \geq ОП_{крит}$).

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (приказ МЗ РФ от 06.06.12 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р ИСО 15190-2023.

4.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 300, ProClin 150, натрия азид, фенол, кислоту серную, тетраметилбензидин в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольным образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) 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-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

– спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 - 655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– промывочное устройство для планшетов;

– холодильник бытовой;

– дозаторы одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;

– дозаторы многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы

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

жидкостей от 5 мкл до 350 мкл;

– цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки (плазмы) крови человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови следует хранить при температуре (2-8) °С не более 5 суток, или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. Допускается однократное замораживание. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.4. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. ***Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.***

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 1 часа.

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2-8) °С, использовать в течение всего срока годности набора. Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2-30) °С.

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

– Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

– При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, раствор ТМБ, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

– Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

– Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

– При использовании автоматического устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.

– Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– В случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (ванночки) дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

– Запрещается повторное использование планшета для предварительного разведения образцов.

7.2. **Подготовка планшета.**

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

7.3. **Приготовление промывочного раствора**.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогреть его при температуре (30-40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести

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

в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 и довести до соответствующего объема дистиллированной водой, тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2-8) °С не более 5 суток.

7.4. **Конъюгат**.

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

7.5. **Раствор ТМБ**.

Раствор ТМБ готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в ванночку для реагента.

Таблица расхода компонентов

Количество используемых стрипов	**Промывочный раствор**		**Конъюгат, мл**	**Раствор ТМБ, мл**
	ФСБ-Т×25, мл	**Дистиллированная вода, мл**		
1	2,0	До 50	1,0	1,0
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

7.6. **Подготовка исследуемых образцов**.

Исследуемые образцы развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток (РПРС). Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельных образцов сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать.

При разведении сыворотки красный цвет РПРС должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

Предварительно разведенные исследуемые образцы хранить при температуре (18-26) °С не более 3 ч

7.7. **Контрольные образцы ($К^+$, $К^-$) и стоп-реагент** готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

***Внимание!** Раствор для разведения сывороток перед использованием встряхнуть!*

8.1. В любые две лунки, например, А-1 и В-1, внести по 100 мкл отрицательного

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

контрольного образца ($К^-$), в одну лунку, например, С-1, – 100 мкл положительного контрольного образца ($К^+$).

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.6.), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемый образец разбавляется в 100 раз.

8.2. Для определения титра антител в выявленных положительных образцах в лунки верхнего ряда А-2 – А-12 внести по 180 мкл РРС и по 20 мкл предварительно разведённых исследуемых образцов, тщательно перемешать пипетированием. В лунки рядов В-Н внести по 100 мкл РРС. Многоканальной пипеткой перенести по 100 мкл разведённых исследуемых образцов сыворотки (плазмы) из лунок верхнего ряда в лунки второго ряда, перемешать (контрольные образцы не титровать). Из лунок второго ряда – в лунки третьего ряда, перемешать. Так же последовательно перенести до последнего ряда. Из последнего ряда удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором по 100 мкл содержимого лунок. Таким образом, в вертикальных рядах получаются последовательные 2-кратные разведения исследуемых образцов в интервале от 1:100 до 1:12800.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин при использовании всех лунок планшета.

Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 30 мин в термостате при температуре (37±1) °С.

8.3. По окончании инкубации снять липкую пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 400 мкл промывочного раствора (см п. 7.3). Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге

8.4. Внести во все лунки планшета по 100 мкл конъюгата (см. п. 7.4).

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре (37 ± 1) °С.

Остатки конъюгата из ванночки утилизировать (***не сливать во флакон с исходным конъюгатом***). Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.5. По окончании инкубации промыть планшет как указано в п. 8.2.

8.6. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ (см. п. 7.5.) и инкубировать в защищённом от прямого солнечного света месте 25 мин при температуре (18 – 26) °С.

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

Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).*** Для внесения раствора ТМБ использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.7. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента.

8.8. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр - 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620 - 655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср.}К^-$).

9.2. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с $К^-$ не более 0,25;

– значение ОП в лунке с $К^+$ не менее 0,80.

9.3. Вычислить критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$) по формуле:

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср.}К^- + 0{,}15.$$

9.4. Результат анализа считается положительным, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$.

Результат анализа считается отрицательным, если $ОП_{обр.} < ОП_{крит.}$.

9.5. При определении титра в выявленных положительных образцах за титр IgG к ЦМВ принимается последнее разведение исследуемого образца, при котором значение ОП в соответствующей лунке больше либо равно $ОП_{крит.}$

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8)°С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора реагентов — 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

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

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

10.6. Изделие нестерильно и не требует стерилизации.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «ВектоЦМВ-IgG», следует обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 227-67-64, (383) 227-75-43

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

КРАТКАЯ СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИФА ДЛЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ВектоЦМВ-IgG»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести:	по 100 мкл $К^+$, $К^-$
Внести:	по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.
Инкубировать:	30 мин, 37°С.
Промыть:	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл конъюгата.
Инкубировать:	30 мин, 37°С
Промыть:	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл раствора ТМБ
Инкубировать:	25 мин, 18–26°С, в темноте.
Внести:	по 100 мкл стоп-реагента.
Измерить:	ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

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

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Осторожно
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до		Обратитесь к инструкции по применению или инструкции по применению в электронном виде
YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате: Год-Месяц-День Год-Месяц		

Ведущий биотехнолог лаборатории
герпес-вирусных инфекций НИИ СД
АО «Вектор-Бест» Е.Ю. Косова

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест» М.Ю. Рукавишников

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

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 10 листов.
Директор по технологии и качеству
АО «Вектор-Бест»
_____ Масяго А.В.
«28» 10 2024 г.

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