

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного определения
индекса avidности иммуноглобулинов
класса G к цитомегаловирусу
в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ВектоЦМВ-IgG – avidность

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1558

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Определение индекса авидности иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу позволяет уточнить сроки инфицирования, подтвердить диагноз первичной цитомегаловирусной инфекции и дифференцировать первичную и паст-инфекции.

1.3. Набор рассчитан на проведение 48 анализов, включая контрольные образцы. Для исследования небольших партий проб возможны 6 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контрольные образцы.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе. Специфическим реагентом набора является очищенный рекомбинантный антиген цитомегаловируса, иммобилизованный на поверхности лунок полистиролового разборного планшета.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в дублях в лунках стрипов с иммобилизованным анти-

геном. Антитела к ЦМВ связываются с иммобилизованным антигеном, формируя комплекс «антиген-антитело». На второй стадии, после внесения белок-диссоциирующего агента в один из параллельных рядов, происходит диссоциация комплексов «антиген-антитело», включающих IgG с более низкими константами связывания (низкой авидностью). На третьей стадии связавшиеся антитела взаимодействуют с конъюгатом моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с раствором тетраметилбензидина (ТМБ).

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце IgG к ЦМВ.

Индекс авидности рассчитывается как отношение оптической плотности, полученной в лунках в присутствии диссоциирующего агента, к оптической плотности, полученной при анализе без диссоциирующего агента и выражается в процентах.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованным на внутренней поверхности

лунок рекомбинантным антигеном ЦМВ, готовый для использования – 1 шт.;

- положительный контрольный образец, содержащий высокоавидные IgG к ЦМВ, инактивированный (K^+_{BA} ; прозрачная жидкость красного цвета, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 3,0 мл;
- положительный контрольный образец, содержащий низкоавидные IgG к ЦМВ, инактивированный (K^+_{HA} ; прозрачная жидкость желтого цвета, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 3,0 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^- ; прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 3,0 мл;
- конъюгат (моноклональные антитела к IgG человека с пероксидазой хрена; жидкость синего цвета) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; прозрачная бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при температуре от 30 до 40 °С в течение 20 мин) – 2 фл. по 28 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС; прозрачная жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС; бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 12 мл;
- раствор сравнения (РС; бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 8,0 мл;

- раствор белок-диссоциирующего агента (БДА; прозрачная жидкость зеленого цвета) – 1 фл., 8,0 мл;
- раствор тетраметилбензидина (прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12 мл.
- пленка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 16 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность выявления низкоавидных IgG к ЦМВ по сывороткам стандартной панели предприятия, содержащим низкоавидные IgG, % – 100.

3.2. Специфичность выявления высокоавидных IgG к ЦМВ по сывороткам стандартной панели предприятия, содержащим высокоавидные IgG, % – 100.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. *В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.*

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

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любые другие возбудители вирусных инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих

с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

4.8. Точность и воспроизводимость результатов анализа зависят от строгого выполнения следующих правил:

– не используйте реагенты с истекшим сроком годности;

– при постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест»;

– *запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;*

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– используйте стеклянную посуду, тщательно вымытую и ополоснутую дистиллированной водой, или (предпочтительно) одноразовую посуду;

– не допускайте высыхания стрипов в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов;

– ферментативная реакция очень чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором тетраметилбензидина;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– необходимо следить за состоянием промывочного устройства – регулярно обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протирать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с раствором ТМБ;

– проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Возможные причины занижения чувствительности:

– уменьшение времени инкубации (как правило, реакции с раствором ТМБ);

– использование загрязненной посуды и наконечников;

– замачивание посуды и наконечников в перекиси водорода или хлорсодержащих растворах без последующего кипячения в процессе мытья;

– плохая отмывка после инкубации сывороток;

– постановка ИФА с растворами, не нагретыми перед постановкой до температуры 18–25°C;

– размещение планшет в термостате стопкой;

– нарушение правил и сроков хранения вскрытых компонентов при детальном использовании набора.

Возможные причины ложноположительных результатов из-за погрешностей постановки:

– длительное внесение образцов по отношению к времени инкубации;

– плохая отмывка планшета после инкубации с конъюгатом;

– контаминированный вошер, гребенка;

– низкое качество дистиллированной воды;

- неправильная работа с пипетками;
- неправильное использование липкой пленки, приводящее к подсыханию раствора;
- контаминированные или с наличием клеточных элементов сыворотки.

Для получения правильного рабочего разведения исследуемых сывороток необходимо:

- при отборе сыворотки для предварительного разведения не погружать наконечник глубоко в сыворотку, чтобы исключить налипание сыворотки на внешнюю поверхность наконечника;
- тщательно перемешивать сыворотку при предварительном разведении.

Для исключения взаимной контаминации сывороток во вспомогательном планшете для предварительного разведения сывороток и в рабочем планшете необходима тщательная и аккуратная работа, без разбрызгивания растворов.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменны-

- ми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 300 мкл;
 - промывочное устройство для планшетов;
 - перчатки резиновые хирургические;
 - бумага фильтровальная лабораторная;
 - флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
 - планшет для иммунологических исследований разборный однократного применения;
 - цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;
 - колба вместимостью 1000 мл;
 - вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 6 мес. Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить центри-

фугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора, в том числе запечатанный пакет с планшетом, и образцы сывороток (плазмы) крови при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

7.2. Контрольные образцы ($K^+_{ва}$, $K^+_{на}$ и K^-), конъюгат, раствор ТМБ и стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

7.3. ПРАВИЛА РАБОТЫ

ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

7.3.1. Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

7.3.2. После первого вскрытия флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение трех месяцев, но в пределах срока годности набора.

7.4. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные

стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

Хранение: при температуре от 2 до 8°C в течение 3 месяцев, но в пределах срока годности набора.

7.5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА (ФСБ-Т ОДНОКРАТНЫЙ)

Промывочный раствор приготовить разведением исходного концентрата ФСБ-Т в 25 раз. Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Хранение: не более 5 суток при 2–8°C.

7.6. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Исследуемые образцы сывороток (плазмы) крови предварительно развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток, используя стрипы дополнительного планшета. Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл исходной исследуемой сыворотки (плазмы),

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистилли- рованная вода, мл
2	2,0	2,0	4,0	до 100
4	4,0	4,0	8,0	до 200
6	6,0	6,0	12,0	до 300
8	8,0	8,0	16,0	до 400
10	10,0	10,0	20,0	до 500
12	12,0	12,0	24,0	до 600

тщательно перемешать. При этом цвет раствора в лунках должен измениться с малинового на желтый. Если изменения цвета не произошло, результат анализа данной сыворотки может быть неправильным.

Хранение: не более 3 часов при 18–25°C.

7.7. ПОДГОТОВКА КОНЪЮГАТА

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным конъюгатом*).

7.8. ПОДГОТОВКА РАСТВОРА ТМБ

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов), отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество раствора ТМБ.

Остатки раствора ТМБ из флакона или ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ*).

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

Хранение: не более 3 часов при 18–25°C в темноте.

7.9. Стоп-реагент готов к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

8.1. В лунки стрипов внести попарно по 100 мкл контрольных образцов для прямого (нечетные стрипы) и диссоциирующего (четные стрипы) ИФА. Например, в лунки А-1, А-2 и В-1, В-2 – K^- , в лунки С-1, С-2 – $K^+_{НА}$, в лунки D-1, D-2 – $K^+_{ВА}$.

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток, затем попарно в соседние лунки двух стрипов внести по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых сывороток (п. 7.6.), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемая сыворотка в лунке разбавляется в 100 раз (см. схему).

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°C.

8.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 2 раза промывочным раствором (п. 7.5.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. *Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.3. Во все лунки нечетных стрипов (для прямого ИФА) внести по 100 мкл раствора сравнения. Во все лунки четных стрипов (для

Схема

	1	2	3	4	5	6
A	K ⁻	K ⁻	СЫВ. 5	СЫВ. 5		
B	K ⁻	K ⁻	СЫВ. 6	СЫВ. 6		
C	K ⁺ _{НА}	K ⁺ _{НА}	СЫВ. 7	СЫВ. 7		
D	K ⁺ _{БА}	K ⁺ _{БА}	СЫВ. 8	СЫВ. 8		
E	СЫВ. 1	СЫВ. 1	СЫВ. 9	СЫВ. 9		
F	СЫВ. 2	СЫВ. 2	СЫВ. 10	СЫВ. 10		
G	СЫВ. 3	СЫВ. 3	СЫВ. 11	СЫВ. 11		
H	СЫВ. 4	СЫВ. 4	СЫВ. 12	СЫВ. 12		
	РС	БДА	РС	БДА		

диссоциирующего ИФА) внести по 100 мкл белок-диссоциирующего агента. Заклеить планшет пленкой и инкубировать в течение 15 мин при температуре от 18 до 25 °С.

8.4. По окончании инкубации промыть лунки 3 раза как описано в п. 8.2.

8.5. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (п. 7.7.).

Отрезать пленку требуемого размера. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°С.

Для внесения конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.6. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз как описано в п. 8.2.

8.7. Во все лунки внести по 100 мкл раствора ТМБ.

Планшет закрыть крышкой и выдержать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C.

Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности на одной длине волны – 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

10. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** по 100 мкл K^+_{BA} , K^+_{HA} , K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных в РПРС.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 2 раза.
- Внести:** по 100 мкл РС и БДА.
- Инкубировать:** 15 мин, 18–25°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 3 раза.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ;
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

11.1. Рассчитать критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$) в прямом ИФА:

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср.} K^- \text{ прямого ИФА} + 0,1.$$

11.2. Если ОП исследуемого образца в прямом ИФА ($ОП_{\text{прямИФА}}$) превышает $ОП_{крит.}$, рассчитать индекс avidности по формуле:

$$ИА = \frac{ОП_{\text{диссоц. ИФА}}}{ОП_{\text{прям. ИФА}}} \times 100\%$$

11.3. Провести оценку результатов:

– значение индекса avidности в лунках с высокоavidным контрольным образцом должно быть не менее 60%. ($ИА K^+_{BA} > 60\%$)

– значение индекса avidности в лунках с низкоavidным контрольным образцом должно быть не более 30%. ($ИА K^+_{HA} < 30\%$)

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (для прямого ИФА) должно быть не более 0,20 ($ОП_{ср} K^- \text{ прямого ИФА} < 0,20 \text{ о.е.}$)

11.4. Только в случае соблюдения условий п. 11.3 можно учитывать результаты, полученные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

11.5. Рассчитать индексы avidности исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови по формуле (см. п. 11.2.).

11.6. Если ОП исследуемой сыворотки выше динамического диапазона измеряемой прибором оптической плотности (для «Sunrise» Тесан выше 3 о.е.), возможна ошибка в определении ИА, а именно, его завышение.

С целью правильного определения индекса avidности специфических иммуноглобулинов в таких сыворотках (особенно при наличии в сыворотке специфических IgM) необходимо предварительно развести исходную сыворотку в 4 раза, используя в качестве разводящего раствора однократный ФСБ-Т (п. 7.5), и повторить тест на avidность в соответствии с Инструкцией, начиная с п.7.

С этой же целью возможно измерение величины оптической плотности в лунках стрипов на длине волны 405 нм (референс-волна остается неизменной – 620–655 нм). Такой порядок учета результатов позволит не пропустить слабоположительные сыворотки (регистрация ОП на 450 нм), а индекс avidности сильноположительных сывороток можно будет рассчитать по оптической плотности, измеренной на длине волны 405 нм, избежав, таким образом, их повторного анализа с дополнительным разведением.

11.7. При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgG к ЦМВ в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

12. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Если индекс avidности исследуемой сыворотки менее 30%, то сыворотка содержит низкоавидные антитела, что указывает на первичную инфекцию, имевшую место в среднем 3 месяца назад.

Индекс avidности исследуемой сыворотки в диапазоне 30–50% указывает на первичную инфекцию, имевшую место в среднем от 3 до 5 месяцев назад.

Если индекс avidности более 50%, то сыворотка содержит высокоавидные антитела, что указывает на пост-инфекцию.

Следует обратить внимание, что у образцов с ОП близкой к ОП_{крит.} (в пределах от ОП_{крит.} до $2 \times$ ОП_{крит.}) ошибка в определении индекса avidности может быть достаточно велика. Сыворотки от таких пациентов необходимо исследовать в динамике.

13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

13.1. Набор следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (9 мес.). Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание не допускается.

13.2. Дробное использование набора может быть реализовано не позднее **3 месяцев** с момента проведения первого иммуноферментного анализа, но в пределах срока годности.

13.3. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

ПРИЛОЖЕНИЕ

В настоящее время ЦМВ рассматривается как наиболее частая причина осложнений при трансплантации органов и врожденной патологии, вызванной внутриутробным заражением. И в том и в другом случае первичная инфекция обладает более выраженным патогенным действием, нежели реинфекция, вызывая у 10–20% детей с врожденной ЦМВ серьезные повреждения центральной нервной системы.

У иммунокомпетентных лиц, включая беременных женщин, диагноз ЦМВИ ставится на основе определения специфических антител. В этой группе очень важно дифференцировать первичную инфекцию от реинфекции или реактивации. Диагноз первичной инфекции основан на наблюдении сероконверсии и/или определении специфических иммуноглобулинов класса М. Однако, очень сложно пронаблюдать момент сероконверсии, т.к. в большинстве случаев ЦМВИ протекает бессимптомно. Иммуноглобулины класса М не являются специфичными для первичной инфекции, т.к. циркулируют в крови много месяцев после острой стадии первичной инфекции, а также могут продуцироваться при реинфекции или реактивации.

Достоверным доказательством недавней первичной цитомегаловирусной инфекции является определение индекса avidности специфических IgG. Так, IgG, продуцируемые первые 3 месяца после первичной инфекции являются низкоавидными, т.е. обладают небольшим сродством к антигенным детерминантам вируса. Поэтому, образующийся комплекс «антиген-антитело» является непрочным и легко разрушается под воздействием диссоцииру-

ющих агентов. Таким образом, при первичном инфицировании индекс авидности в течение первых 3-х месяцев не превышает 30%, возрастая к 5 месяцам до 50%. В дальнейшем, при реактивации или реинфекции, в крови определяются высокоавидные антитела с индексом авидности до 100%.

Итак:

– наличие в крови низкоавидных IgG, а также специфических IgM свидетельствует либо об острой стадии первичной инфекции, либо о недавней (около 3-х месяцев) первичной инфекции в анамнезе.

– наличие высокоавидных IgG при отсутствии IgM говорит о паст-инфекции.

– наличие высокоавидных IgG в присутствии IgM свидетельствует либо о реинфекции, либо о том, что с момента острой стадии болезни прошло более 5 месяцев.

– наличие низкоавидных IgG без IgM возможно при неадекватном иммунном ответе вследствие иммунодефицитных состояний.

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

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46,
тел./факс (383), 332-67-49
e-mail: vobtk@vector-best.ru

За справками и консультацией обращаться:
в лабораторию герпес-вирусных инфекций,
тел. (383) 227-75-43

02.09.10.

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путем
ВИЧ-инфекция
TORCH-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52
E-mail: vbmarket@vector-best.ru
Internet: www.vector-best.ru