

**УТВЕРЖДАЮ**

**Генеральный директор  
ООО «Научно-производственное  
объединение «Диагностические системы»**

**И. Е. Колосов**

« 13 »

2010 г.



## **И Н С Т Р У К Ц И Я**

**по применению набора реагентов  
«ДС-ИФА-Анти-ЦМВ-Г-Авидность»**

**Тест-система иммуноферментная для определения индекса авидности  
антител класса G к цитомегаловирусу,  
набор диагностический**

## Содержание

I.	Назначение	3
II.	Состав набора	3
III.	Меры предосторожности	4
IV.	Инструкция по безопасности	5
V.	Необходимые материалы и оборудование, не предоставляемое с набором реагентов	5
VI.	Отбор и подготовка образцов	6
VII.	Подготовка реагентов	6
VIII.	Проведение анализа	7
IX.	Учет результатов	8
X.	Срок годности. Условия хранения и транспортирования	8
XI.	Объяснение символов	8

**Набор реагентов выпускается в одном комплекте.**

Набор рассчитан на одновременное проведение 48 (8 x 6) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по два стрипа) использования набора.

**I. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов «ДС-ИФА-Анти-ЦМВ-G-Авидность» предназначен для определения индекса авидности антител класса G к цитомегаловирусу в сыворотке (плазме) крови человека методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с целью специфической диагностики первичной инфекции.

**Внимание!** Расчет индекса авидности возможен лишь для сывороток, предварительно исследованных с помощью тест-системы «ДС-ИФА-Анти-ЦМВ-G» и показавших положительный результат на наличие Анти-ЦМВ-IgG.

**II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-Анти-ЦМВ-G-Авидность»**

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент - планшет полистироловый 96-луночный разборный с прозрачными бесцветными лунками, в которых сорбирована смесь рекомбинантных антигенов ЦМВ.	1 планшет
Конъюгат (концентрат x 21), жидкий – моноклональные мышинные антитела против иммуноглобулинов G человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 0,75 мл
K <sub>1</sub> + (контрольный высокоавидный положительный образец), жидкий - сыворотка крови человека в разведении 1:100, содержащая высокоавидные антитела класса G к цитомегаловирусу, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1 и антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С; инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
K <sub>2</sub> + (контрольный низкоавидный положительный образец), жидкий - сыворотка крови человека в разведении 1:100, содержащая низкоавидные антитела класса G к цитомегаловирусу, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С; инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
K- (контрольный отрицательный образец), жидкий - сыворотка крови человека в разведении 1:100, не содержащая антитела к цитомегаловирусу, не содержащая HBsAg и антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С; инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зелёного цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
БР (блок-раствор) - для рабочего разведения исследуемых сывороток. Прозрачная или слегка опалесцирующая бледно-розового цвета жидкость.	1 флакон 12,5 мл
РРС (раствор для предварительного разведения сывороток) – прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетово-синего цвета жидкость.	1 флакон 12,5 мл
РРК (раствор для разведения конъюгата) – прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 13,5 мл
РД (раствор денатурирующий) - прозрачная сиреневого цвета жидкость.	1 флакон 7,0 мл
РС (раствор сравнения) - прозрачная зелено-голубого цвета жидкость.	1 флакон 7,0 мл
ПР – промывочный раствор (концентрат x 25). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при	1 флакон 50,0 мл

температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	
СБ - субстратный буферный раствор, содержащий лимонную кислоту, ацетат натрия, раствор водорода перекиси, рН 4,2. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 15,0 мл
ТМБ - раствор, содержащий 3,3',5,5'- тетраметилбензидин Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 2,5 мл
Стоп-реагент - раствор серной кислоты 0,2 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл
Планшет для предварительного разведения сывороток - полистироловый 96-луночный разборный иммунологический с прозрачными бесцветными лунками.	1 шт.

Реагенты помещают в коробку картонную или пакет полиэтиленовый, куда вкладывают инструкцию по применению.

Дополнительно набор может быть укомплектован	Крышка к полистироловым 96-луночным планшетам или защитная пленка для ИФА планшетов	1 шт.
	Одноразовые наконечники	16 шт.
	Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт.
	Пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или пакет полиэтиленовый с замком zip-lock	1 шт.


### III. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.
- Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий и смешивать их в процессе приготовления растворов.
- Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить тест в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на ферментативную активность конъюгатов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многократные ванночки для автоматических анализаторов необходимо сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной. Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной.
- Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).
- Ферментативная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстратов.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца.
- Промывка лунок - важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполнены, не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.
- Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.

- Необходимо использовать воду дистиллированную.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

#### IV. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении отрицательного контрольного образца и положительных контрольных образцов были протестированы и определены неактивными в отношении поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антигена р24 ВИЧ-1 и антител к гепатиту С и ВИЧ-1,2.
- При работе с исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с набором реагентов с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, реагентами, промывочными растворами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Необходимо избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы. При расплескивании немедленно дезактивировать поверхность 3 % раствором хлорамина Б.
- Необходимо избегать контакта субстратного буфера, хромогена, стоп-реагента с кожей и слизистыми.
- После проведения ферментной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в сточную трубу. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства (СМС) или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации – не менее 1 ч. Допустимо применение другого разрешенного к применению дез. средства. Твёрдые отходы также следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см<sup>2</sup> (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезактивации – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см<sup>2</sup> (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.
- Некоторые реагенты содержат Проклин 300 (0,04% и 0,05%).
- <sup>x1</sup> Раздражающее вещество. Может вызвать сенсibilизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промойте область контакта большим количеством мыла и воды.

#### V. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМОЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длинах волн 450 нм, 620-680 нм.
- Автоматические или полуавтоматические, регулируемые или предварительно устанавливаемые одноканальные или многоканальные пипетки с изменяемым объемом для отбора жидкостей.
- Одноразовые наконечники к пипеткам.
- Инкубатор микропланшетный (37,0 ± 0,5) °С.

- Автоматический микропланшетный вошер.
- Градуированные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.
- Вода дистиллированная.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Перчатки медицинские.

## VI. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови должен проводиться в соответствии с текущей практикой. В качестве исследуемых образцов могут быть использованы сыворотка (плазма) крови человека. Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником. Отобранные образцы хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 48 часов. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °С (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Ложные результаты могут быть получены с образцами с выраженным гемолизом и гиперлипидемией. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

Образцы с выраженным гемолизом, бактериальным ростом, гиперлипидемией (сильная опалесценция) анализу не подлежат!

## VII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

### 1. Реагенты, готовые к применению

- K<sub>1</sub>+ - контрольный высокоavidный положительный образец.
- K<sub>2</sub>+ - контрольный низкоavidный положительный образец.
- K- - контрольный отрицательный образец.
- РРС – раствор для предварительного разведения исследуемых сывороток.
- РРК - раствор для разведения конъюгата.
- БР - блок-раствор для рабочего разведения сывороток.
- РД – раствор денатурирующий.
- РС – раствор сравнения.
- Стоп-реагент.

### 2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

**Иммуносорбент.** Каждый планшет, состоящий из 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть пакет и вынуть планшет. Взять необходимое количество стрипов. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в пакет. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 1 мес. при температуре от 2 до 8 °С, при условии, что пакет герметично закрыт с помощью полиэтиленового пакета с замком Zip-Lock или с помощью скрепки. Не допускается удалять силикагель из пакета.

**Рабочий промывочный раствор (ПР).** Содержимое флакона с концентратом (x 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата (x 25) промывочного раствора развести соответствующим объемом воды дистиллированной (см. табл. 2). Полученный раствор тщательно перемешать. Приготовленный рабочий промывочный раствор стабилен в течение 3-х суток при хранении при температуре от 2 до 8 °С.

**Рабочий раствор конъюгата.** Готовить перед использованием. Для приготовления рабочего раствора конъюгата необходимый объем концентрата (x 21) конъюгата развести соответствующим объемом РРК (см. табл. 2). Полученный раствор осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Рабочий раствор конъюгата стабилен не более 6 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

**Субстратная смесь (СС).** Готовить перед использованием. Необходимый объем ТМБ развести соответствующим объемом СБ (см. табл. 2), тщательно перемешать до полного растворения. Хранению

не подлежит.

**Субстратная смесь должна быть бесцветной!**

### 3. Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия флаконов, оставшиеся неиспользованными реагенты набора:  $K_1+$ ,  $K_2+$ ,  $K-$ , конъюгат (концентрат x 21), РРС, РРК, БР, РС, РД, ПР (концентрат x 25), СБ, ТМБ, стоп-реагент хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, в течение срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С; иммуносорбент после вскрытия пакета - в течение 1 мес. при температуре от 2 до 8 °С.

## VIII. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

**Примечание: Перед использованием все реагенты набора выдержать в течение 30 мин при температуре от 18 до 24 °С.**

Необходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых стрипов или планшета представлены в таблице 2:

Таблица 2

**Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов**

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. x 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. x 21) (мл)	РРК (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
2	4,0	96,0	0,10	2,0	0,3	2,0
4	8,0	192,0	0,20	4,0	0,6	4,0
6	12,0	288,0	0,30	6,0	0,9	6,0
8	16,0	384,0	0,40	8,0	1,2	8,0
10, 12	20,0	480,0	0,50	10,0	1,5	10,0

### Проведение ИФА.

1. Вскрыть фольгированный пакет с иммуносорбентом, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество стрипов. Пакет с неиспользованными стрипами и силикагелем тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край пакета с иммуносорбентом свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета.

2. Перед использованием иммуносорбент промыть 2 раза рабочим раствором ПР, заливая его до краев лунок (не менее 380 мкл в лунку), выдержать 40 сек и удалить промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала. Не допускать остатка жидкости в лунках планшета.

3. Образцы сывороток развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток. Для этого в лунки вспомогательного планшета внести дозатором по 90 мкл РРС и по 10 мкл образцов исследуемых сывороток, содержимое лунок тщательно перемешать осторожным пипетированием. При этом фиолетово-синий цвет должен измениться на голубовато-зеленый. Если цвет раствора в лунке не изменился, то сыворотка не была внесена (данное правило не распространяется на сильно разведенные образцы). Разведённые сыворотки не хранить!

4. Контрольные образцы внести одновременно по 100 мкл в лунки двух параллельных (нечетного и четного) стрипов. Например, в 2 лунки А-1 и А-2 дозатором пипеточным внести по 100 мкл  $K_1+$ , в 2 лунки В-1 и В-2 по 100 мкл  $K_2+$ , в 2 лунки С-1 и С-2 по 100 мкл  $K-$ . В остальные лунки иммуносорбента внести по 90 мкл БР и по 10 мкл предварительно разведенных (в 10 раз) образцов сывороток (конечное разведение сывороток в лунках 1:100). Каждый образец внести попарно в соседние лунки двух параллельных стрипов (нечетного и четного).

5. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным пипетированием. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 30 минут при температуре  $(37,0 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ .

6. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью вошера или многоканальной пипетки) и затем планшет промыть 4 раза рабочим раствором ПР, как указано в п. 2.

7. В лунки нечётных стрипов планшета внести по 100 мкл раствора сравнения (РС), а в лунки чётных стрипов – по 100 мкл раствора денатурирующего (РД). Планшет выдержать 10 минут в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24  $^\circ\text{C}$ .

8. Содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала и затем планшет промыть 2 раза рабочим раствором ПР, как указано в п. 2.

9. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 30 минут при температуре  $(37,0 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ .

10. Содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала, затем планшет промыть 4 раза рабочим раствором ПР, как указано в п. 2.

11. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл СС. Планшет выдержать в течение 15-20 минут в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24  $^\circ\text{C}$ .

12. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реагента и провести учет результатов.

## IX. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов провести спектрофотометрически при двух длинах волн - 450 нм и при референс-длине волны в диапазоне от 620 до 680 нм с настройкой прибора по «воздуху». Допустим учёт результатов при одной длине волны - 450 нм.

Реакцию учитывать, если значения оптической плотности (ОП) в лунках с  $K_{1+}$  (нечетные стрипы) - не менее 0,6, а среднее значение ОП растворов в лунках с  $K_-$  - не более 0,2.

Индекс avidности рассчитать по формуле:

$$\text{Индекс avidности} = \frac{\text{ОП исслед. образца (реакция с РД)}}{\text{ОП исслед. образца (реакция с РС)}} \times 100 \%$$

Полученные результаты достоверны, если индекс avidности  $K_{1+}$  не менее 70 %, а индекс avidности  $K_{2+}$  не более 40 %.

Если индекс avidности исследуемой положительной сыворотки менее 40%, то сыворотка содержит низкоavidные антитела, что указывает на первичную инфекцию.

Если значение ОП исследуемых образцов превышает 3,0, сыворотку рекомендуется предварительно развести в 4 раза ПР и анализировать повторно как цельный образец.

## X. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности – 24 месяца. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.




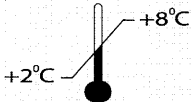



Хранение - в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8  $^\circ\text{C}$ .

Транспортирование - при температуре от 2 до 8  $^\circ\text{C}$ . Допустимо транспортирование от 9 до 20  $^\circ\text{C}$  и не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в в Лабораторный центр ФГУ «НЦ ЭСМП «Росздравнадзора» по адресу: 117051, г. Москва, Научный пр-д, 14А, тел.(499)120-60-95,120-60-96 и в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: [info@npods.nnov.ru](mailto:info@npods.nnov.ru); [www.npods.ru](http://www.npods.ru).



## XI. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/СЕ по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования
	Код партии (номер серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

Директор по производству  
ООО «Научно-производственное объединение  
«Диагностические системы»



**В.К. Пименов**