

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА IgG

## 1201-11, CMV IgG

Каталог. № : 1201-11  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 08-08-2012



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Анализ	Cytomegalovirus CMV IgG
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль и пороговое значение (cut-off)
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	98 %
Чувствительность	97 %
Общее время	~ 75 мин.
Срок годности	12-18 мес.

### ПРИМЕНЕНИЕ

Набор CMV IgG предназначен для определения серологического статуса пациента при цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ).

### ВВЕДЕНИЕ

Цитомегаловирус является вирусом герпеса и основным биологическим фактором, вызывающим врожденные аномалии и нарушения, которые передаются при переливании крови при проведении иммуносупрессивной терапии. Около половины беременных женщин, заразившихся данной болезнью, передают заболевание плоду. Приобретенная внутриутробная инфекция может стать причиной задержки умственного развития, слепоты и/или глухоты.

Серологические анализы по определению антител к ЦМВ могут использоваться для получения информации об истории предыдущих случаев инфицирования, для диагностики наличия активной формы болезни или перенесенной болезни, а также для скрининга образцов крови, предназначенных для переливания новорожденным и иммуно-компромиссным реципиентам. Diagnostic Automation CMV IgG является точным серологическим методом для определения антител к ЦМВ для идентификации инфекции ЦМВ.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген, привитый к поверхности микроячеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки и специфическое антитело CMV IgG, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он связывается с комплексом антитело-антиген. Остатки ферментного конъюгата вымываются и добавляются субстрат и хромоген. Каталитическая реакция останавливается в специфическое время. Интенсивность вырабатываемого цвета пропорциональна количеству специфического IgG-антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Лунки микроплшета, покрытые очищенным антигеном ЦМВ (12x8 лунок).
2. Ферментный конъюгат, раствор красного цвета – 1 фл. 12 мл.
3. Отрицательный калибратор: 0 МЕ/мл, натуральная крышка – 150 мкл/фл.
4. Калибратор величины исключения: 1,2 МЕ/мл, желтая крышка – 150 мкл/фл. Коэффициент CMV G = 1,0
5. Положительный калибратор: 6 МЕ/мл, красная крышка (150 мкл / флакон).
6. Положительный калибратор: 18 МЕ/мл, зеленая крышка – 150 мкл/флакон

7. Отрицательный контроль: границы указаны на флаконе, голубая крышка – 150 мкл/флакон
8. Положительный контроль: границы указаны на ярлыке, коричневая крышка – 150 мкл/флакон
9. Промывочный концентрат 10x: белая крышка – 1 бутылка 100 мл
10. Разбавитель образцов: раствор голубого цвета – 1 бутылка 22 мл
11. Хромоген субстрат TMB, янтарная бутылка – 1 флакон, 12 мл
12. Стоп раствор: 2 N HCl – 1 флакон, 12 мл.

### ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты, входящие в состав набора, следует хранить при 2-8 °С.
2. Микропланшет хранить в закрытой упаковке с осушителем. Рекомендуется использовать лунки в течении 4 недель после вскрытия
3. Все реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время их хранения или использования.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ (1+2), ни один из известных методов не может дать полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами, как с потенциально инфекционным материалом.
2. В целях безопасности в лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой, пипетировать компоненты набора ртом.
3. Не использовать для проведения анализа реагенты разных серий.
4. Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом и медью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

### СБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Собрать образцы крови и отделить сыворотку.
2. Образцы можно хранить при 2-8 °С не более одной недели или замороженными в течении 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб.

### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Приведите все компоненты набора и анализируемые образцы до комнатной температуры (20-25 °С) и аккуратно перемешать.
2. Промывочный буфер развести дистиллированной или деионизированной водой до общего объема 1 литр

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместить нужное количество стрипов в штатив.
2. Развести разбавителем для образцов в соотношении 1:40, добавляя 5 мкл образца, отрицательный контроль, положительный контроль и калибраторы к 200 мкл разбавителя для образцов. Тщательно перемешать.
3. В соответствующие лунки внести по 100 мкл разведённых образцов сыворотки, калибратора и контролей. Для определения фона внести 100 мкл разбавителя для образцов в лунку 1А. Удалить пузырьки воздуха из жидкости и тщательно перемешать содержимое лунок. Инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
4. Удалить жидкость из лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
5. Внести в каждую лунку по 100 мкл ферментного конъюгата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
6. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
7. Внести 100 мкл TMB хромогенного субстрата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
8. Внести 100 мкл стоп раствора для остановки реакции.
9. С помощью ридера измерить оптическую плотность лунок при 450 нм.

### РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите среднее значение дубликатов калибратора  $x_c$ .
2. Вычислите среднее значение дубликатов положительного контроля, отрицательного контроля и образцов сыворотки.
3. Вычислите коэффициент CMV IgG каждого определения разделив среднее значение каждого образца на среднее значение калибратора,  $x_c$ .

## Пример типичных результатов

### Коэффициент CMV IgG порогового калибратора = 1,0

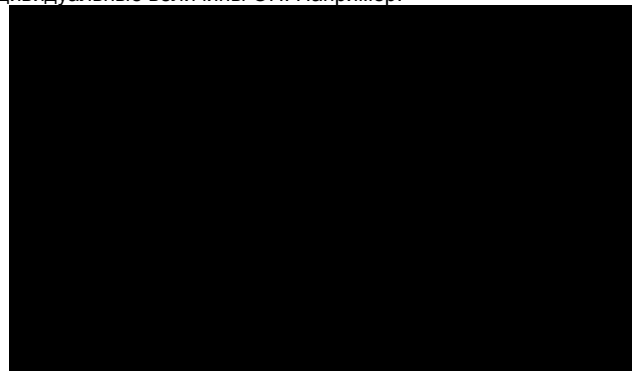
ОП калибратора = 0,685, 0,695  $X_c=0,690$

ОП образца пациента = 1,373, 1,457  $X_s=1,415$

Коэффициент CMV IgG =  $1,415/0,690 = 2,05$

### КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА CMV IgG

Для количественной оценки уровня анти- CMV IgG положительных образцов в МЕ/мл, на оси Y на графике откладывается ОП калибратора и положительного контроля против их соответствующей концентрации CMV IgG 0, 1,2, 6, 18 МЕ/мл на оси X. Уровень в сыворотке пациента считывается с графика, используя их индивидуальные величины ОП. Например:



### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Ход анализа можно считать удовлетворительным, если выполняются следующие требования:

1. ОП контрольного реагента с микропланшетного ридера должна быть меньше 0,250
2. Если ОП калибратора будет меньше 0,250, тест считается не действительным и его нужно повторить
3. Коэффициент CMV IgG или МЕ/мл единицы для отрицательного и положительного контроля должны быть в границах, указанных на ярлыке.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: коэффициент CMV IgG = 0,90 или ниже является сероотрицательным для антитела IgG CMV (<1,1 МЕ/мл)

Нейтральный: коэффициент CMV IgG 0,91-0,99 является нейтральным. Образцы следует тестировать повторно.

Положительный: коэффициент CMV IgG 1,00 или выше, или величина МЕ выше чем 1,2 является сероположительным. Он указывает на предварительное выделение к вирусу CMV (>1,2 МЕ/мл)

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Чувствительность и специфичность

Тестировалось 85 образцов сыворотки для оценки специфичности и чувствительности. Результаты данного теста:

		Референтный ИФА			
		N	E	P	Общее
ИФА компании ДАИ	N	45 (D)	0	1 (B)	46
	E	0	1	0	1
	P	1 ©	0	38 (A)	39
	Общее	46	1	39	86

Чувствительность =  $A / (A+B) = 38/39 = 97\%$

Специфичность =  $D / (C+D) = 45/46 = 98\%$

Точность =  $(A+D) / (A+B+C+D) = (38+45) / (38+1+1+45) = 83 / 85 = 98\%$

#### Точность

Точность была оценена тестированием трех разных сывороток 8 репликантов три дня. Внутри и между тестовая точность показана ниже:

	Отрицательный	Низко положительный	Положительный
В анализе	8,9%	8,2%	7,2%
Между анализами	9,7%	8,3%	7,8%

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Как и в других серологических анализах, результаты этого анализа должны интерпретироваться совместно с другой клинической информацией.
2. Липемические, гемолизированные, иктерические и инактивированные нагреванием образцы сыворотки крови могут исказить результаты анализа.



### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»  
ул.Черновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)