

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20__ г.

№ _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора

ООО «Научно-производственное

объединение «Диагностические

системы»



О.Н. Шлюндин

« _____ 2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«ДС-ИФА-Анти-ЦМВ-М»

**Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgM к
цитомегаловирусу, набор диагностический**

Содержание

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

Набор реагентов выпускается в одном комплекте:

Комплект рассчитан на проведение 96 (8 x 12) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа..

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ДС-ИФА-Анти-ЦМВ-М» - тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgM к цитомегаловирусу в сыворотке (плазме) крови.

II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-Анти-ЦМВ-М»

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 антитела мыши к иммуноглобулину М человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	1 флакон 0,75 мл
К+ (контрольный положительный образец), жидкий - сыворотка крови человека, содержащая специфические антитела класса IgM к цитомегаловирусу, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
К- (контрольный отрицательный образец), жидкий - сыворотка крови человека, не содержащая антитела класса IgM к цитомегаловирусу, не содержащая HBsAg и антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
РРК (раствор для разведения конъюгата) - прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 13,5 мл
БР (блок-раствор) - прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетово-синего цвета жидкость.	1 флакон 12,5 мл
ПР (концентрат x 25) – промывочный раствор. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл
СБ - субстратный буферный раствор, содержащий лимонную кислоту, ацетат натрия, раствор водорода перекиси. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 15,0 мл
ТМБ - раствор, содержащий 3,3',5,5'- тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 1,5 мл
Стоп-реагент - раствор серной кислоты 0,75 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл

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. 2 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 из наборов разных серий.
- Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Перед использованием все реагенты набора выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
- Растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить ферментную реакцию в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на активность конъюгатов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многоцветные 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).
- Ферментная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстрата.
- Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.
- Промывка лунок - важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполняются, 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.
- 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 К- были протестированы и определены неактивными в отношении антител к цитомегаловирусу, поверхностного антигена вируса гепатита В, антигена р24 ВИЧ-1, антител к вирусу гепатита С и вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1,2.
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении К+ были протестированы и определены неактивными в отношении поверхностного антигена вируса гепатита В, антигена р24 ВИЧ-1, антител к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными

материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

- При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами необходимо 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, ТМБ, 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 канализацию. 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 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/см² (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/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.



- **Xi** Некоторые реагенты содержат Проклин 300. Проклин 300 0,04% - 0,05 % - раздражающее вещество. Может вызвать сенсибилизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

V. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная.
- 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.
- Микропланшетный ридер с возможностью измерения оптической плотности (ОП) при фильтрах 450 нм и 620-680 нм.

VI. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы сывороток 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 подвергнуться 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 при 1000 – 2000 об/мин в течение 15 мин при температуре от 4 до 8 °С.

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

VII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты, готовые к применению:

- К⁻ - контрольный отрицательный образец;
- К⁺ - контрольный положительный образец;
- РРК - раствор для разведения конъюгата;
- БР - блокирующий раствор для разведения исследуемых образцов;
- Стоп-реагент.

2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

Иммуносорбент. Каждый планшет, состоящий из 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет и вынуть планшет. Взять необходимое количество стрипов. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край фольгированного пакета свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 1 мес. при температуре от 2 до 8 °С.

Рабочий промывочный раствор (ПР). Содержимое флакона с концентратом (концентрат х 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата 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 в герметично укуренной емкости.

Рабочий раствор конъюгата. Необходимое количество РРК перенести в чистый флакон, добавить соответствующее количество концентрата (х 21) конъюгата (см. табл. 2) и осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Хранить не более 6 часов в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

Субстратная смесь (СБ). Развести необходимый объем ТМБ соответствующим объемом СБ (см. табл. 2). Тщательно перемешать до полного растворения. Субстратную смесь готовить перед использованием. Хранению не подлежит.

Субстратная смесь должна быть бесцветной!

После вскрытия флаконов и пакета с иммуносорбентом оставшиеся не использованными реагенты: иммуносорбент - хранить не более 1 мес., конъюгат (концентрат х 21), контрольный положительный образец (К⁺), контрольный отрицательный образец (К⁻), РРК, БР, ПР (концентрат х 25), СБ, ТМБ, стоп-реагент хранить во флаконах, закрытых винтовыми крышками, на протяжении срока годности тест-системы 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		СБ	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 21) (мл)	РРК (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
1	2,0	48,0	0,05	1,0	0,1	1,0
2	4,0	96,0	0,10	2,0	0,2	2,0
3	6,0	144,0	0,15	3,0	0,3	3,0
4	8,0	192,0	0,20	4,0	0,4	4,0

5	10,0	240,0	0,25	5,0	0,5	5,0
6	12,0	288,0	0,30	6,0	0,6	6,0
7	14,0	336,0	0,35	7,0	0,7	7,0
8	16,0	384,0	0,40	8,0	0,8	8,0
9	18,0	432,0	0,45	9,0	0,9	9,0
10	20,0	480,0	0,50	10,0	1,0	10,0
11	22,0	528,0	0,55	11,0	1,1	11,0
12	24,0	576,0	0,60	12,0	1,2	12,0

Перед использованием иммуносорбент не промывать!

1. При внесении контрольных образцов в зависимости от количества используемых стрипов рекомендуется следующая схема:

1 стрип - 1 лунка К+, 1 лунка К-

2 стрипа - 1 лунка К+, 2 лунки К-

3 и более - 2 лунки К+, 3 лунки К-

В лунки стрипа дозатором пипеточным внести по 100 мкл К+ и К-. В остальные лунки иммуносорбента внести по 90 мкл блок-раствора, затем по 10 мкл образцов исследуемых сывороток. Содержимое лунок тщательно перемешать пипетированием. При этом фиолетово-синий цвет раствора должен измениться на голубовато-зеленый. Если цвет раствора в лунке не изменился, это свидетельствует о том, что сыворотка в лунку не добавлена (данное правило не распространяется на сильно разведенные образцы).

2. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать 30 мин при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

3. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дез. раствором с помощью промывочного устройства, планшет промыть 4 раза рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер, заливая до краёв лунок (380-400 мкл в лунку), выдержать 40 с, затем удалить промывочный раствор в ёмкость с дезинфицирующим раствором. Рекомендуется использование автоматического микропланшетного вошера. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.

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

5. Содержимое лунок аккуратно удалить в емкость с дез. раствором, с помощью промывочного устройства, планшет промыть 5 раз рабочим ПР, используя автоматический микропланшетный вошер, как указано в п 3.

6. Во все лунки отмытых стрипов внести по 100 мкл СС и планшет выдержать в течение 15 - 20 мин в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 $^\circ\text{C}$.

7. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 50 мкл стоп-реагента и провести учет результатов при основном фильтре 450 нм и референс-фильтре 620-680 нм, используя ридер. Допустим учет результатов при одной длине волны 450 нм.

IX. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Реакцию учитывать, если значения оптической плотности (ОП) в лунках с К+ - не менее 0,6, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- - не более 0,2.

Положительным считать образец со значением ОП, равным или превышающим ОП критическое (ОП крит.).

ОП крит. рассчитывать по формуле:

$$\text{ОП крит.} = \text{ср. знач. ОП К-} + \text{А,}$$

где А - коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов постановки ИФА на предприятии-изготовителе, величину которого указывают для каждой серии в инструкции по применению, вкладываемой в коробку с набором и в паспорте на серию данного препарата.

X. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ




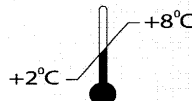


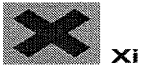
Срок годности - 24 месяца. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Хранение - в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование - при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование от 9 до 20 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» Россия, 603093, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.nnov.ru, www.npods.ru.

XI. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

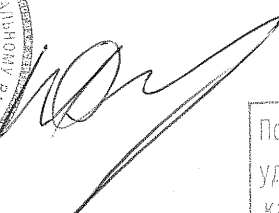
	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/СЕ по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования
	Код партии (номер серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

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




В.К. Пименов

СОГЛАСОВАНО
Зав.кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»
д.м.н, профессор



В.В. Долгов

Подпись: 
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: 