

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
здравоохранения
Республики Беларусь



В.Е.Шевчук
"16" "08" 2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
АНТИТЕЛ КЛАССА G К ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ
В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

«ИФА-ЦМВ-IgG»
Комплект 1

СОГЛАСОВАНО

Зам. директора
РУП "Центр экспертиз и
испытаний в здравоохранении"



С.И. Зинченко

"16" "08" 2011 г.

СП ООО "Фармлэнд"
Генеральный директор



В.В. Сенчук

"16" "08" 2011 г.

2011

Handwritten signature

1 Назначение набора

1.1 Набор предназначен для качественного и количественного определения содержания антител класса G к цитомегаловирусу (ЦМВ) в сыворотке или плазме крови человека "in vitro" методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа.

2 Характеристика и принцип работы набора

2.1 Состав набора:

Наименование компонента	Количество
Иммуносорбент	1 планшет
Положительный контрольный образец (K ⁺)	1 флакон, 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (K ⁻)	1 флакон, 3,0 мл
Конъюгат (K _Г)	1 флакон, 0,5 мл
Раствор для предварительного разведения сывороток (РПР-С)	1 флакон, 11,0 мл
Раствор для разведения сывороток (РР-С)	1 флакон, 11,0 мл
Раствор для разведения конъюгата (РР-К)	1 флакон, 13,0 мл
Буферный раствор для субстрата (БРС)	1 флакон, 13,0 мл
Хромоген ТМБ	1 флакон, 0,5 мл
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25)	1 флакон, 28,0 мл
Стоп-реагент	1 флакон, 6,0 мл
Планшет для предварительного разведения сывороток	1 штука
Комплект ванночек для реагентов с наконечниками для многоканальных пипеток	1 комплект
Клейкая пленка	3 штуки

2.2 Основные компоненты набора «ИФА-ЦМВ-IgG» – иммуносорбент и конъюгат.

Иммуносорбент представляет собой разборный полистироловый планшет, в лунках которого сорбирована смесь рекомбинантных белков pp150, P52 и pp65, являющихся антигенными детерминантами белков ЦМВ.

Конъюгат представляет собой моноклональные антитела мыши к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена.

Положительный контрольный образец – сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к ЦМВ с известным значением специфической активности, выраженной в единицах института Пауля Эрлиха, РЕ/мл, и не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С и Treponema pallidum и HBs-антиген, инактивированная прогреванием при температуре 56 °C в течение 3 ч.

Отрицательный контрольный образец – сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ЦМВ, ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С, Treponema pallidum и HBs-антиген, инактивированная прогреванием при температуре 56 °C в течение 3 ч.

Принцип работы набора. При внесении в лунки планшета образцов сыворотки (плазмы) инфицированной крови человека специфические антитела к ЦМВ связываются с антигенами ЦМВ, сорбированными на поверхности лунок планшета иммуносорбента, образуя иммунные комплексы «антиген–антитело». Образовавшиеся комплексы выявляют при помощи иммуноферментного конъюгата. После отмывания несвязавшихся компонентов комплекс «антиген–антитело класса G–конъюгат» выявляют, добавляя в лунки планшета раствор субстрата пероксидазы (перекись водорода) и хромогена (ТМБ). При этом в лунках, содержащих специфические антитела класса G к ЦМВ, происходит изменение окраски раствора. В лунках, не содержащих специфические антитела класса G к ЦМВ, изменение окраски раствора не произойдет.

Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (0,9 М раствор серной кислоты). Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на спектрофотометре как величину оптической плотности (ОП), ОП, при длине волны 450 нм.

Величина ОП прямо пропорциональна концентрации специфических антител, содержащихся в образце сыворотки (плазмы) крови человека. Чем выше содержание антител класса G к ЦМВ в образце, тем выше интенсивность окрашивания раствора.

2.3 Набор рассчитан на проведение **12 постановок** ИФА: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **96 определений**, включая контрольные образцы.

Продолжительность анализа составляет **1 ч 15 мин.**

3 Меры предосторожности при работе с набором

3.1 Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. Однако работа со всеми исследуемыми образцами сыворотки (плазмы) крови человека, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции, с отработанными растворами и жидкостями, различным оборудованием, которое может быть загрязнено в процессе анализа, требует определенных мер безопасности при использовании набора:

- работу необходимо проводить в специально оборудованном помещении;
- работать необходимо с применением средств индивидуальной защиты и с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2], и [3].

3.2 Стоп-реагент, содержащий серную кислоту, обладает раздражающим действием. При попадании на кожу и слизистые немедленно промыть большим количеством воды.

3.3 При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

3.4 Все лица, работающие в лаборатории с наборами, должны проходить обязательный медицинский осмотр в соответствии с требованиями [4].

3.5 Утилизация медицинских отходов и/или неиспользованных наборов с истекшим сроком годности должна производиться в соответствии с требованиями [5].

4 Правила работы с набором

4.1 Для исключения ложных результатов исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови человека необходимо готовить и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст. Необходимо осветлять образцы сыворотки крови человека, содержащие агрегированные компоненты сыворотки или осадок, при помощи центрифугирования в течение 15 мин при скорости вращения 3000 об/мин. Образцы сыворотки крови человека можно хранить при температуре (2-8) °C не более 7 суток. Замороженные образцы (желательно до температуры минус 20 °C и ниже) можно хранить не более 6 месяцев. Необходимо избегать повторных циклов замораживания-оттаивания образцов.

Необходимо помнить, что образцы с гемолизом, гиперлипидемией, бактериальным проростом, а также длительно хранившиеся без замораживания не пригодны для анализа.

Надежность результатов зависит от выполнения следующих правил:

- не допускается использование набора после окончания срока годности, а также смешивание компонентов наборов разных серий;
- для приготовления каждого реагента должна использоваться отдельная емкость;
- всю используемую для приготовления реагентов посуду нельзя обрабатывать дезрастворами и моющими средствами. В случае необходимости промыть водой питьевой проточной, а затем пять раз ополоснуть дистиллированной водой;
- для работы с хромогеном ТМБ необходимо использовать отдельные емкости для растворов и наконечники для пипеток;
- необходимо обратить внимание на тщательное перемешивание реагентов;
- время между заполнением и опорожнением лунок планшета растворами и реагентами должно быть не менее 30 с. Не допускается подсыхание лунок на всех этапах постановки ИФА;
- при использовании промывателя необходимо следить за состоянием емкости для раствора для промывания планшета и соединительных шлангов: в них не должно быть признаков бактериального или грибкового роста;

- необходимо использовать пипетки автоматические со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3 %);
- дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать раствором с объемной долей спирта этилового 70 %. Не использовать хлорамин и другие хлорсодержащие вещества;
- для работы с образцами исследуемой сыворотки (плазмы) крови человека и контрольными образцами рекомендуется использовать одноразовые наконечники для пипеток. Каждый образец сыворотки (плазмы) крови человека, а также реагенты набора необходимо отбирать отдельным наконечником;
- при внесении в лунки раствора Кг в рабочем разведении нельзя касаться наконечником пипетки поверхности планшета;
- во время проведения анализа следует избегать попадания прямых солнечных лучей на рабочую поверхность.

5 Оборудование и материалы, необходимые для проведения анализа

- 5.1** Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны от 450 нм до 700 нм;
- полу- или автоматическое устройство для промывания планшетов (вошер);
 - суховоздушный термостат типа ТС-80 М2, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, или аналогичный ему по характеристикам;
 - пипетки одноканальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 0,01 до 5,0 мл;
 - пипетки 8-ми канальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости до 0,5 мл;
 - мерный цилиндр вместимостью 1000 мл;
 - флаконы стеклянные вместимостью 20 мл;
 - ванночки для реагентов или чашки Петри (диаметр 100 мм);
 - вата медицинская гигроскопическая;
 - бумага фильтровальная;
 - перчатки резиновые хирургические;
 - раствор с объемной долей этилового спирта 70 %;
 - раствор с массовой долей перекиси водорода 6 %;
 - вода деионизированная или дистиллированная;
 - контейнер для сбора твердых отходов;
 - контейнер для слива жидких отходов.

6 Подготовка к проведению анализа

6.1 Набор реагентов перед проведением анализа извлечь из холодильника, открыть крышку коробки и выдержать компоненты набора при температуре $(18-25)^\circ\text{C}$ в течение 30 мин.

Все образцы сыворотки (плазмы) крови человека и реагенты набора перед проведением анализа необходимо тщательно перемешать.

Расход реагентов набора для постановки анализа, который определяется количеством используемых стрипов, приведен в таблице А.1 Приложения А.

6.2 Приготовление раствора для промывания планшета

Если флакон с ФСБ-Т×25 содержит осадок, его необходимо прогреть перед использованием при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ до полного растворения осадка.

Для приготовления раствора для промывания планшета содержимое флакона с ФСБ-Т×25 необходимо разбавить в 25 раз водой очищенной. Для этого в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл внести содержимое флакона с ФСБ-Т×25, затем добавить дистиллированной (деионизированной) воды до метки 700 мл и аккуратно перемешать раствор, избегая образования пены.

В случае использования одного или нескольких стрипов содержимое флакона с ФСБ-Т×25 интенсивно встряхнуть в течение (20-30) с, отобрать необходимый объем раствора (таблица А.1

Приложения А) в мерный стакан или цилиндр, добавить необходимое количество дистиллированной (деионизированной) воды и перемешать раствор.

Раствор для промывания планшета можно хранить при температуре (2-8) °С не более 7 сут.

Неиспользованный ФСБ-Т×25 можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

6.3 Подготовка иммуносорбента

Иммуносорбент готов к использованию.

Открыть пакет и установить на рамку необходимое количество стрипов. Неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре (2-8) °С не более 3 месяцев.

6.4 Подготовка K^+ , K^- , РПР-С, РР-С, РР-К, БРС и стоп-реагента

Иммуносорбент, K^+ , K^- , РПР-С, РР-С, РР-К, БРС и стоп-реагент готовы к использованию.

Внимание! Во флаконах с РР-С и РР-К возможно выпадение осадка. Перед использованием содержимое флаконов тщательно перемешать, не допуская образования пены.

Неиспользованные РПР-С, РР-С, РР-К, БРС и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

Остаток K^+ и K^- после вскрытия флаконов можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

6.5 Подготовка исследуемых образцов

Перед проведением анализа каждый образец сыворотки (плазмы) крови человека развести РПР-С в 10 раз. Для этого в лунки планшета для предварительного разведения сывороток или в полистирольные пробирки внести по 0,09 мл (90 мкл) РПР-С и по 0,01 мл (10 мкл) исследуемых образцов. Перемешать полученные растворы 5 раз пипетированием, при этом цвет РПР-С в каждой лунке должен измениться.

Разведенные исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови человека можно хранить не более 2 ч при температуре (18-25) °С.

6.6 Приготовление раствора Кг в рабочем разведении

Из флакона с Кг отобрать указанный в таблице А.1 Приложения А объем и перенести во флакон с РР-К. Содержимое флакона тщательно перемешать, не допуская образования пены.

В случае использования одного или несколько стрипов в чистый флакон отобрать необходимое количество РР-К, добавить Кг в соответствии с таблицей А.1 Приложения А и перемешать раствор, не допуская образования пены.

Внимание! Раствор Кг в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием! Раствор Кг в рабочем разведении можно хранить не более 15 мин при температуре (18-25) °С. Необходимо использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники!

Остаток Кг можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

6.7 Приготовление рабочего раствора субстрата

Если флакон с хромогеном ТМБ содержит кристаллы, его необходимо прогреть перед использованием в течение (3-5) мин при температуре (37±1) °С до полного растворения кристаллов.

Из флакона с хромогеном ТМБ отобрать указанный в таблице А.1 Приложения А объем и перенести во флакон с БРС. Содержимое флакона осторожно перемешать.

В случае использования одного или несколько стрипов в чистый флакон отобрать необходимое количество БРС, добавить хромоген ТМБ в соответствии с таблицей А.1 Приложения А и осторожно перемешать раствор.

Внимание! Рабочий раствор субстрата готовить непосредственно перед использованием в защищенном от света месте! Раствор можно хранить не более 20 мин при температуре (18-25) °С в защищенном от света месте.

Раствор необходимо предохранять от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Перед использованием раствор субстрата должен быть бесцветным. Посуду, которая будет в ходе реакции контактировать с раствором субстрата, отмывать без применения синтетиче-

ских моющих средств. Необходимо использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники.

Остаток хромогена ТМБ можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

7 Требования к промыванию планшета

7.1 Для промывания планшета рекомендуется использовать автоматический или полуавтоматический промыватель – вошер; в случае отсутствия вошера можно промывать лунки 8-канальной пипеткой;

- на всех этапах промывания необходимо контролировать заполнение всех лунок и полное удаление (аспирацию) жидкости из них;

- необходимо при каждом промывании все лунки заполнить раствором до краев (0,30-0,35 мл в лунку), без переполнения и перетекания жидкости из соседних лунок;

- необходимо выдерживать лунки, заполненными раствором для промывания планшета, в течение 30 с;

- при каждой аспирации тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием рамкой со стрипами в перевернутом положении по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена;

- некачественное промывание планшета приводит к получению некорректных результатов.

8 Проведение анализа

8.1 В лунки иммуносорбента внести контрольные образцы. Схема внесения контрольных образцов в лунки иммуносорбента при постановке качественного и количественного анализов приведена ниже.

8.1.1 Постановка качественного анализа

а) при постановке ИФА на полном планшете иммуносорбента или на двух и более стрипах: в любые две лунки иммуносорбента внести по 0,1 мл (100 мкл) K^+ , в две другие лунки иммуносорбента внести по 0,1 мл (100 мкл) K^- , в одну лунку иммуносорбента внести 0,1 мл (100 мкл) РР-С для контроля конъюгата (ККГ);

б) при постановке ИФА на одном стрипе в любую одну лунку иммуносорбента внести 0,1 мл (100 мкл) K^+ , в две другие лунки иммуносорбента внести по 0,1 мл (100 мкл) K^- , в одну лунку иммуносорбента внести 0,1 мл (100 мкл) РР-С для контроля конъюгата (ККГ);

8.1.2 Постановка количественного анализа

В лунку иммуносорбента А-1 и В-1 внести по 0,1 мл (100 мкл) K^+ ; в лунки С-1 и D1 внести по 0,1 мл (100 мкл) K^- ; в лунку Е-1 внести 0,1 мл (100 мкл) РР-С для контроля конъюгата (ККГ).

8.2 В остальные лунки внести по 0,09 мл (90 мкл) РР-С, затем внести по 0,01 мл (10 мкл) образцов исследуемой сыворотки (плазмы) крови человека (п 6.5) (конечное разведение исследуемых образцов – 1:100). Раствор в каждой лунке перемешать **пять раз** пипетированием, при этом во время пипетирования цвет РР-С должен измениться!

Внимание! Общее время внесения в лунки иммуносорбента контрольных и исследуемых образцов не должно превышать (5-10) мин! Каждый образец необходимо отбирать одноразовым наконечником!

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

8.4 Удалить содержимое лунок иммуносорбента с помощью промывателя, затем промыть лунки иммуносорбента раствором для промывания планшета (п 6.2) **пять раз**. Для этого необходимо внести во все лунки по (0,30-0,35) мл раствора, а затем удалить содержимое лунок в емкость с дезраствором. По окончании промывания тщательно удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена.

8.5 Во все лунки иммуносорбента внести по **0,1 мл (100 мкл)** раствора Кг в рабочем разведении (п 6.6). Раствор Кг в рабочем разведении перед внесением в лунки иммуносорбента перелить из флакона в прилагаемую к набору пластиковую ванночку.

Внимание! Раствор Кг в рабочем разведении необходимо вносить в лунки иммуносорбента с использованием одноразовых наконечников, прилагаемых к набору!

8.6 Планшет иммуносорбента заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в течение 30 мин.**

8.7 Удалить содержимое лунок иммуносорбента с помощью промывателя, затем промыть лунки иммуносорбента раствором для промывания планшета (п 6.2) **пять раз.**

8.8 Во все лунки иммуносорбента внести по **0,1 мл (100 мкл)** рабочего раствора субстрата (п 6.7) Рабочий раствор субстрата перед внесением в лунки иммуносорбента перелить из флакона в прилагаемую к набору пластиковую ванночку.

Внимание! Рабочий раствор субстрата необходимо вносить в лунки иммуносорбента с использованием одноразовых наконечников, прилагаемых к набору!

8.9 Планшет иммуносорбента заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать при температуре **(37±1) °С в защищенном от света месте в течение 15 мин.**

Внимание! По окончании инкубации в лунках иммуносорбента с образцами сывороток, содержащими антитела класса G к ЦМВ, произойдет изменение окраски раствора от бесцветной до голубой различной интенсивности в зависимости от концентрации антител.

8.10 Остановить пероксидазную реакцию путем внесения во все лунки иммуносорбента по **0,05 мл (50 мкл)** стоп-реагента.

Внимание! В лунках иммуносорбента с образцами сывороток, содержащими антитела класса G к ЦМВ, произойдет изменение окраски раствора с голубой на желтую различной интенсивности в зависимости от концентрации антител.

8.11 Не позже чем через (1-2) мин после остановки реакции определить значения ОП, ОЕ, в лунках иммуносорбента в одноволновом режиме при длине волны **450 нм.**

9 Обработка результатов анализа

9.1 Рассчитать среднее значение ОП для лунок с К⁻ (ОПср К⁻), ОЕ, и для лунок с К⁺ (ОПср К⁺).

9.2 Результаты учитывать только в том случае если:

- значение ОПср К⁺ – более **1,000 ОЕ**;
- значение ОПср К⁻ – менее **0,200 ОЕ**;
- значение ОП в лунке с ККг (ОП ККг) – менее **0,150 ОЕ**;

9.3 Качественное определение антител класса G к ЦМВ

9.3.1 При соблюдении выше перечисленных условий вычислить критическое значение (ОПкрит.), ОЕ, по формуле (1):

$$\text{ОПкрит.} = \text{ОПср К}^{-} + 0,10 \quad (1).$$

Результат анализа на данном наборе реагентов считать **отрицательным**, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека, ОЕ, **меньше** значения ОПкрит.

Результат анализа на данном наборе реагентов считать **положительным**, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека, ОЕ, **больше или равно** значению ОПкрит.

9.4 Количественное определение содержание антител класса G к ЦМВ

9.4.1 Для образцов сыворотки (плазмы) крови человека, давших **положительный** результат, вычислить активность образца (А обр.), РЕ/мл.

Вычисление А обр., РЕ/мл, провести в **2 этапа**:

1 этап. Рассчитать значение промежуточного показателя (Пп) по формуле (2):

$$\text{Пп} = \text{ОП обр.} \times \frac{\text{А К}^+}{\text{ОПср К}^+} \quad (2),$$

где ОП обр. – значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека;
 А К⁺ – значение активности К⁺, РЕ/мл, полученное при выходном контроле серии набора (таблица А.2 Приложения А, указано на этикетке флакона с К⁺).

2 этап. Рассчитать значение А обр., РЕ/мл по формуле (3):

$$\text{А обр.} = 10^{(\text{Пп} - \text{а}) : \text{б}} \quad (3),$$

где а и б – значения констант, полученные при выходном контроле серии набора (таблица А.2 Приложения А).

Пример расчета полученных данных приведен в таблице 1.

Таблица 1

ОПср К ⁺ – среднее значение ОП в лунках А-1 и В-1, ОЕ	1,633; значение более 1,000
ОПср К ⁻ – среднее значение ОП в лунках С-1 и D-1, ОЕ	0,056; значение менее 0,200
ОП ККг – значение ОП в лунке Е-1, ОЕ	0,031; значение менее 0,100
Вышеуказанные данные свидетельствуют о возможности учета результатов ИФА	
ОПкрит., ОЕ	0,056 + 0,100 = 0,156
А К ⁺ – по таблице А.2 Приложения А (только для данного примера), РЕ/мл	1,8
ОП обр. – значение ОП исследуемого образца, ОЕ	0,754
Пп – значение, рассчитанное по формуле (2), РЕ/мл	0,754 × 1,8 : 1,633 = 0,831
а – значение константы по таблице А.2 Приложения А (только для данного примера)	0,99
б – значение константы по таблице А.2 Приложения А (только для данного примера)	2,43
(Пп – а) : б	(0,831 – 0,99) : 2,43 = -0,065
А обр., РЕ/мл	10 ^{-0,065} = 0,86 ≈ 0,9

Для упрощения процедуры вычисления значений концентрации антител класса G к ЦМВ в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови человека рекомендуется пользоваться компьютерным алгоритмом, написанным по формулам (2) и (3). Компьютерный алгоритм можно запросить в Отделе изделий медицинского назначения СП ООО «Фармлэнд» по тел/факс (017) 2889771 или **бесплатно скачать** с сайта СП ООО «Фармлэнд» по адресу: <http://www.pharmland.by>.

10 Интерпретация результатов

10.1 Если специфическая активность образца **меньше 0,5 РЕ/мл**, результат анализа следует считать **отрицательным**. **Отрицательный** результат анализа подразумевает отсутствие инфицирования либо раннюю стадию цитомегаловирусной инфекции (до начала продукции специфических IgG).

10.2 Если специфическая активность образца **больше или равна 0,5 РЕ/мл**, результат анализа следует считать **положительным**. **Положительный** результат анализа свидетельствует об инфекции, перенесенной в прошлом, или об острой стадии цитомегаловирусной инфекции. Лабораторный диагноз острой стадии цитомегаловирусной инфекции возможен при исследовании в одной постановке парных образцов сыворотки (плазмы) от одного человека, взятых с интервалом **2 недели** для выявления динамики антителообразования. Увеличение уровня специфической активности **в 2 и более раз** свидетельствует об острой инфекции.

11 Форма выпуска набора

11.1 Набор поставляется в двух вариантах комплектации:

1 комплект 1 – для проведения анализа **ручным способом**. Набор рассчитан на проведение **12 постановок ИФА на разборном планшете**: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **96 определений**, включая контрольные образцы;

2 комплект 2 – для проведения анализа на автоматическом анализаторе. Набор рассчитан на проведение **12 постановок ИФА на разборном планшете**: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **96 определений**, включая контрольные образцы.

12 Условия хранения и применения набора

12.1 Хранение набора должно производиться в чистом, защищенном от влаги и света помещении при температуре **(2-8) °С** в течение всего срока годности.

Запрещается замораживать компоненты набора.

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

12.3 Срок годности набора – **12 месяцев**.

Приложение А**Таблица А.1 – Расход реагентов набора для постановки ИФА**

Объем реагента, мл	Количество используемых стрипов, шт.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Приготовление раствора для промывания планшета</i>												
ФСБ-Т×25	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	14,0	16,0	18,0	20,0	22,0	28,0
Дистиллиров. вода	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 700
<i>Приготовление раствора Кг в рабочем разведении</i>												
РР-К	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
Кг	1/13 [*]	2/13 [*]	3/13 [*]	4/13 [*]	5/13 [*]	6/13 [*]	7/13 [*]	8/13 [*]	9/13 [*]	10/13 [*]	11/13 [*]	с [*]
<i>Приготовление рабочего раствора субстрата</i>												
БРС	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
Хромоген ТМБ	1/13 ^d	2/13 ^d	3/13 ^d	4/13 ^d	5/13 ^d	6/13 ^d	7/13 ^d	8/13 ^d	9/13 ^d	10/13 ^d	11/13 ^d	д [*]
* с = 0,5 мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).												
* d = 0,4 мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).												

Таблица А.2 – Данные для вычисления специфической активности

A_{K^+} , РЕ/мл	e^*
a	g^*
b	h^*
* $e = 1,8$ РЕ/мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).	
* $g = 0,99$ (величина переменная, определяется для каждой серии набора).	
* $h = 2,43$ (величина переменная, определяется для каждой серии набора).	

Библиография

- [1] Санитарные правила
СП 17-69 РБ 98 «Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 29.04.1998 № 18
- [2] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 г. № 351
О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД
- [3] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25.11.2002 г. № 165
О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения
- [4] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28.04.2010 г. № 47
Об утверждении Инструкции о порядке проведения обязательных медицинских осмотров работающих и признании утратившими силу некоторых постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь
- [5] Санитарные нормы и правила
СанПиН № 2.1.7.14-20-2005 Правила обращения с медицинскими отходами

Инструкция составлена
сотрудниками СП ООО «Фармлэнд»:

Начальник отдела изделий
медицинского назначения
СП ООО «Фармлэнд»



Ю.В.Сенчук

Ведущий технолог
СП ООО «Фармлэнд»



Е.И.Лаврецкая

Ведущий специалист отдела изделий
медицинского назначения
СП ООО «Фармлэнд»



И.М.Богдановская