НАУЧНО–ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF **Т-152** ∑ **48**

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-АВИДНОСТЬ»

Тест-система иммуноферментная для определения индекса авидности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii*, набор диагностический

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Содержание

I. НАЗНАЧЕНИЕ 3

II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-АВИДНОСТЬ» 3

III. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 4

IV. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ 4

V. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ 5

VI. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ 5

VII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ 5

VIII. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА 6

IX. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ 7

X. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ 7

XI. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ 8

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Набор реагентов выпускается в одном комплекте.
Набор рассчитан на проведение 48 (8 х 6)определений, включая контрольные, с возможностью дробного использования набора.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-АВИДНОСТЬ» предназначен для определения индекса авидности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* в сыворотке (плазме) крови человека, содержащей анти-токсо-G, с целью специфической диагностики первичной инфекции.

II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-АВИДНОСТЬ»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент – планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки), в лунках которого сорбирован токсоплазменный антиген.	1 планшет
Конъюгат (концентрат х 11), жидкий – моноклональные антитела мыши к иммуноглобулину G человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
$К_1$+ (контрольный положительный высокоавидный образец), жидкий − сыворотка крови человека, содержащая высокоавидные антитела класса IgG к *Toxoplasma gondii* и не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая малиново-красного цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
$К_2$+ (контрольный положительный низкоавидный образец), жидкий − сыворотка крови человека, содержащая низкоавидные антитела класса IgG к *Toxoplasma gondii* и не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая оранжевого цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
К- (контрольный отрицательный образец), жидкий – сыворотка крови человека, не содержащая антитела класса IgG к *Toxoplasma gondii* и не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл
БР – блок-раствор для разведения исследуемых образцов. Прозрачная жидкость фиолетово-синего цвета, допустимо образование осадка, при встряхивании распадающегося и приводящего к помутнению раствора.	1 флакон 12,5 мл
РРК − раствор для разведения конъюгата. Прозрачная или слегка опалесцирующая желтого или светло-желтого цвета жидкость, допустимо образование аморфного осадка, при встряхивании распадающегося и приводящего к помутнению раствора.	1 флакон 12,5 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 х 25). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого 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. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 15,0 мл
ТМБ-хромоген – 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, 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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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 или смешивать их при приготовлении 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. Многоразовые 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 высокого качества.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию тепла или света во время инкубации и хранения.

IV. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для диагностики «in vitro».
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении отрицательного контрольного образца, положительного высокоавидного контрольного образца и положительного низкоавидного контрольного образца были протестированы и определены нереактивными в отношении поверхностного антигена гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита 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 спецодежду 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- После проведения ферментной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы, до сброса в канализационную 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 или в 3% раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации – не менее 1ч. 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 кГ/см^2 (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчёта 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 кГ/см^2 (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудованием до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.
-  Некоторые реагенты содержат 0,05% Проклин 300. Проклин 300 0,05% – раздражающее вещество. Может вызвать сенсибилизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промойте область контакта большим количеством мыла и воды.

V. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ 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.
- Наконечники одноразовые для пипеток переменного объема.
- Инкубатор микропланшетный (37,0 ± 0,5) °С.
- Автоматический микропланшетный вошер.
- 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 сыворотки следует отбирать новым наконечником!** Отобранные образцы хранить не более 3 суток при температуре от 2 до 8 °С. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °С (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Сыворотку от эритроцитов или плазму от сгустка следует отделить как можно быстрее, чтобы избежать гемолиза. Гемолиз может повлиять на рабочие характеристики теста. Исследование образцов с выраженным бактериальным ростом, гемолизом и гиперлипидемией не допускается, т.к. может дать неправильный результат. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

VII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты готовые к применению:

- **К-** – контрольный отрицательный образец.
- **К$_1$+** – контрольный положительный высокоавидный образец.
- **К$_2$+** – контрольный положительный низкоавидный образец.
- **РРК** – раствор для разведения конъюгата.
- **БР** – блок-раствор для рабочего разведения сывороток.
- **РД** – раствор денатурирующий.
- **РС** – раствор сравнения.
- **СБ** – субстратный буферный раствор.
- **Стоп-реагент**.

2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

Объемы реагентов для проведения анализа на необходимом количестве стрипов или на целом планшете приведены в таблице 2.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		СС	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	Конъюгат (конц. х 11) (мл)	РРК (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
2	8,0	192,0	0,2	2,0	0,2	2,0
4	16,0	384,0	0,4	4,0	0,4	4,0
6	24,0	576,0	0,6	6,0	0,6	6,0
8	32,0	768,0	0,8	8,0	0,8	8,0
10	40,0	960,0	1,0	10,0	1,0	10,0
12	50,0	1200,0	1,2	12,0	1,2	12,0

- **Иммуносорбент.** Каждый планшет, содержащий 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть пакет и вынуть планшет. Взять нужное количество стрипов. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в пакет. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 6 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. Силикагель удалять из пакета нельзя.
- **Рабочий промывочный раствор (ПР).** Содержимое флакона с концентратом (х 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата (х 25) промывочного раствора развести соответствующим объемом воды очищенной (см. табл. 2). Полученный раствор тщательно перемешать. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут при температуре от 18 до 24 °С или 28 сут при температуре от 2 до 8 °С.
- **Рабочий раствор конъюгата.** Готовить перед использованием. Для приготовления рабочего раствора конъюгата необходимый объем концентрата (х 11) развести соответствующим объемом РРК (см. табл. 2). Полученный раствор осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Рабочий раствор конъюгата стабилен не более 12 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.
- **Раствор денатурирующий (РД)**. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать.
- **Раствор сравнения (РС)**. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать.
- **Субстратная смесь (СС).** Готовить перед использованием. Необходимый объем ТМБ развести соответствующим объемом СБ (см. табл. 2), тщательно перемешать до полного растворения. Допустимо хранение СС не более 10 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С в химически чистых флаконах.

  Субстратная смесь должна быть бесцветной!

3. Хранение неиспользованных реагентов.

После вскрытия флаконов, оставшиеся неиспользованными реагенты допускается хранить: ПР (х 25), $К_1$+, $К_2$+, К-, РРК, конъюгат (х 11), БР, РД, РС, СБ, ТМБ, стоп-реагент – во флаконах, закрытых винтовыми крышками, в течение срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С; иммуносорбент после вскрытия пакета – в течение 6 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.

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 тщательно герметизировать (не удаляя осушитель!). 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.

После первого вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 6 мес при температуре от 2 до 8 °С.

2. Перед использованием иммуносорбент промыть 2 раза ПР, осторожно заливая его с помощью промывочного устройства или многоканальной пипетки до краёв лунок (не менее 380 мкл в лунку), выдерживая 40 сек и удаляя промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Контрольные образцы внести одновременно по 100 мкл в лунки двух параллельных стрипов. Например, в лунки А-1 и А-2 внести по 100 мкл $К_1$+, в лунки В-1 и В-2 – по 100 мкл $К_2$+, в лунки С-1 и С-2 по 100 мкл К-. В остальные лунки иммуносорбента внести по 90 мкл БР и попарно в соседние лунки двух стрипов внести по 10 мкл образцов исследуемых сывороток (конечное разведение сывороток 1:10). Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным пипетированием, при этом фиолетово-синий цвет должен измениться на зеленовато-голубой. Если изменения цвета не произошло, значит, сыворотка не внесена. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в термостате 30 мин при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

4. Содержимое лунок удалить в емкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью промывочного устройства или многоканальной пипетки) и планшет промыть 4 раза ПР, как в п.2

5. В лунки нечетных стрипов внести по 100 мкл РС. В лунки четных стрипов – по 100 мкл РД. Планшет выдержать 10 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

6. Содержимое лунок удалить в емкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью промывочного устройства или многоканальной пипетки) и планшет промыть 2 раза ПР, как в п. 2.

7. Во все лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата в рабочем разведении. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в термостате 30 мин при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

8. Содержимое лунок удалить в емкость для сбора инфицированного материала и планшет промыть 4 раза рабочим раствором ПР, как в п. **2**.

9. Во все лунки планшета внести по 100 мкл СС и планшет выдержать 20 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

10. Реакцию остановить добавлением во все лунки по 50 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 учет результатов при одной длине волны – 450 нм.

Реакцию учитывают, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с $К_1$+ составляет не менее 0,6, а средние значения ОП К- – не более 0,2.

Индекс авидности рассчитывать по формуле:

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

Полученные результаты достоверны, если индекс авидности $К_1$+ не менее 70%, а индекс авидности $К_2$+ не более 50%. Если индекс авидности исследуемой положительной сыворотки менее 50%, то сыворотка содержит низкоавидные антитела, что указывает на первичную инфекцию.

Внимание! Расчет индекса авидности возможен лишь для сывороток, предварительно исследованных с помощью тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G» и показавших промежуточный и положительный результаты на наличие анти-токсо-G.

Если значения 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 – 15 месяцев. 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 и 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» 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

XI. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

CE	ЕС маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)		
IVD	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)	EXP.	Срок годности дата/месяц/год
LOT	Номер партии (серии)		Использовать инструкцию по применению
+2°C +8°C	Температурные пределы хранения	Xi	Содержит раздражающее вещество

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования».

 - «Внимание», символ 5.4.4;

 - Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.4;

 - Беречь от влаги, символ 5.3.2.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru