

«УТВЕРЖДАЮ»

Исполнительный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»П.Г. Каленик
июня 2009 г.**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ****Набор реагентов для определения антител IgG к краснухе (Rubella IgG)
производства фирмы HUMAN GmbH (Германия)****Краснуха IgG (RUBELLA IgG)**

Иммуноферментный тест для качественного или количественного определения антител класса IgG к вирусу краснухи в сыворотке крови человека

Набор рассчитан на 96 определений

ВВЕДЕНИЕ

Краснуха (*Rubella*) – вирусное заболевание, основным проявлением которого является экзематозная кожная сыпь. Нередко краснуха протекает субклинически. Одной из особенностей данной инфекции является возможность ее передачи плоду во время беременности, что может вести к внутриутробной гибели плода или врожденным уродствам, катаракте и задержке умственного развития.

Наличие высокой концентрации специфических антител класса IgG к вирусу краснухи у беременных способно защитить плод от инфекции.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение антител класса IgG к вирусу краснухи осуществляется методом классического двухстадийного непрямого иммуноферментного анализа. Очищенные вирусные антигены (ВК АГ) адсорбированы на лунках микропланшета. На первой стадии инкубации антитела к вирусу краснухи (анти-ВК IgG), содержащиеся в контролях и исследуемых образцах, связываются с иммобилизованными антигенами. После промывки, удаляющей несвязавшиеся компоненты сывороток, в лунки добавляется конъюгат, представляющий собой антитела к IgG человека (анти-IgG), меченые пероксидазой хрена. В результате инкубации (стадия 2) конъюгат специфически связывается на поверхности лунок с антителами класса IgG, образуя иммунокомплексы.

После повторной промывки, удаляющей несвязавшийся конъюгат, в лунки вносится субстрат (стадия 3). Ферментативная реакция пероксидазы с субстратом ТМБ приводит к образованию окрашенного продукта, изменяющего свой цвет с синего на желтый после добавления стоп-реагента. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации в образце IgG антител к вирусу краснухи и может быть измерена на планшетном фотометре с длиной волны 450 нм (например, HUMAREADER).

Результат интерпретируется как положительный или отрицательный при сравнении с расчетным значением уровня отсеечения (cut-off), либо выражается в Международных единицах (МЕ/мл), с расчетом по калибровочной кривой (в качестве калибраторов используются cut-off контроль и положительный контроль).

МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

MIC	Стрипы 8-луночные (код RUB G, в рамке-держателе) Стрипы, разделяемые на отдельные лунки, с иммобилизованным очищенным антигеном вируса краснухи; в упаковке с влагопоглотителем	12 шт.
NC	Краснуха IgG отрицательный контроль (зеленая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
CC	Краснуха IgG cut-off контроль (белая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки; 15 МЕ/мл*	1×2,5 мл
PC	Краснуха IgG положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки; 100 МЕ/мл*	1×2,5 мл
* Контроли CC и PC Откалиброваны по 2-му Международному стандартному препарату (ВОЗ) антител к вирусу краснухи		
DIL-G 5121	Буфер для разведения IgG образцов (белая крышка) Готовый к использованию 0,01 М фосфатный буфер, <u>зеленого цвета</u> ; содержит 8 г/л хлорида натрия и 10 г/л альбумина; pH 6,5±0,2	1×100 мл
CON	Конъюгат анти-IgG (белая крышка) Готовый к использованию раствор кроличьих антител к IgG человека, меченых	1×12 мл

пероксидазой хрена, красного цвета

WS 5102	Промывочный раствор (белая крышка) Концентрат (на 1000 мл готового раствора, содержащего 10 ммоль/л трис-солевого буфера и 8 г/л хлорида натрия; pH 7,2±0,2)	1×50 мл
SUB 5103	Субстратный реагент (черная крышка) Готовый к использованию, бесцветный или голубоватый; содержит 1,2 ммоль/л 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и 3 ммоль/л перекиси водорода; pH 3,7±0,2	1×13 мл
STOP 5104	Стоп-реагент (красная крышка) Готовый к использованию, содержит 0,5M серную кислоту	1×15 мл
	Клейкая пленка для стрипов	2 шт.

- Общее содержание консервантов в реагентах составляет < 0,1%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не пипетируйте реагенты ртом, не курите, не принимайте пищи во время исследования. Избегайте контакта с кожей и слизистыми. Проверка контролей, входящих в состав набора, на наличие антител к ВИЧ 1 и 2, вирусу гепатита С, а также HBsAg, дала отрицательный результат. В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP) пользуйтесь защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

После исследования все материалы, контактировавшие с образцами пациентов или контролями, должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при температуре 121 °C, замачиванием в 5% растворе гипохлорита натрия в течение 1 часа или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо иным лабораторным дезинфектантом).

Стоп-реагент **STOP** содержит серную кислоту, способную вызвать ожоги глаз, кожи и слизистых покровов. При контакте с этим реагентом тщательно промойте пораженное место большим количеством проточной воды, после чего обратитесь к врачу.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетках, в условиях хранения при температуре 2-8 °C.

После вскрытия флаконов реагенты пригодны к использованию в течение 2 месяцев.

Стрипы **MIC** (код RUB G)

- Планшет, состоящий из 12 стрипов в рамке-держателе, запаян под вакуумом в пластиковый металлизированный пакет с влагопоглотителем.
- Перед вскрытием упаковку с планшетом следует прогреть до комнатной температуры.
- Неиспользованные стрипы необходимо вернуть обратно в пакет с влагопоглотителем, плотно закрыть его герметизирующей застежкой и хранить в таком виде при температуре 2-8 °C.

Не касайтесь пальцами дна лунок и их верхней кромки.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием дайте всем реагентам прогреться до **комнатной температуры**. (15-25 °C). Неиспользуемые реагенты следует всегда хранить при температуре 2-8 °C.

Примечание: Реагенты общего назначения **DIL-G** 5121, **WS** 5102, **SUB** 5103 и **STOP** 5104 взаимозаменяемы между различными партиями (лотами) набора и различными наборами фирмы HUMAN. В ИФА тестах на IgG антитела используйте **только IgG буфер** для разведения образцов **DIL-G** 5121.

Все остальные реагенты **специфичны к конкретной партии (лоту) набора** и не могут быть заменены реагентами из другой партии. При работе с данным набором не допускается использование каких-либо реагентов других производителей.

Рабочий раствор промывочного буфера **WASH**

- Для получения рабочего раствора промывочного буфера разведите концентрат **WS** 5102 в соотношении 1:20 свежей дистиллированной водой (например: 50 мл концентрата **WS** 5102 + 1000 мл дистиллированной воды = 1050 мл).
- **Стабильность: 60 дней при температуре 2-8 °C.**

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сыворотки

Не используйте образцы с сильным гемолизом или липемией.

Образцы могут храниться в течение 7 дней при температуре 2-8 °C, более длительное хранение возможно в замороженном виде при температуре -20 °C. Допускается только однократное замораживание. Оттаявшие

образцы необходимо гомогенизировать. При наличии в сыворотках взвешенных частиц удалите последние центрифугированием или фильтрацией.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Внимание! Точность полученных результатов зависит от строгого следования приведенной ниже процедуре исследования.

Предварительные замечания

P1: Не смешивайте реагенты из разных партий наборов. Не путайте крышки от флаконов. Не пользуйтесь реагентами с истекшим сроком годности.

P2: Не пользуйтесь реагентами, если они загрязнены, либо имеют запах или вид, отличный от обычного.

P3: Аккуратно впишите номера контролей и образцов в листок-формуляр, приложенный к оригиналу инструкции.

P4: Подсчитайте количество лунок, необходимое для данного исследования. Выньте необходимое количество стрипов **MIC** или отдельных лунок из упаковки и вставьте их в рамку-держатель.

P5: Исследование контролей должно проводиться в дубликатах. Вносить образцы и контроли необходимо как можно ближе ко дну лунки.

P6: Всегда вносите реагенты в лунки в одном и том же порядке, чтобы свести к минимуму разброс по времени реакции между отдельными лунками. Это важно для воспроизводимости результатов. Общее время пипетирования не должно превышать 5 минут. В противном случае, контроли следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины образцов. Если для анализа используется больше одного планшета, контроли следует ставить с каждым из них.

P7: Любые воздушные пузырьки в лунках должны быть удалены до начала инкубации или измерения оптической плотности.

P8: Добавление рабочего раствора субстрата **SUB** инициирует процесс развития окраски, который прерывается при добавлении стоп-реагента **STOP**. Во время развития окраски инкубируйте планшеты в темноте.

Методика промывки

Промывка лунок является исключительно важной стадией. Недостаточная промывка ведет к снижению точности полученных результатов и завышению оптической плотности.

W1: Снимите со стрипов защитную пленку, после чего удалите жидкость из лунок в 5% раствор гипохлорита натрия и внесите в них рабочий раствор промывочного буфера **WASH**. Через 30 секунд удалите жидкость из лунок и повторите промывку еще трижды (всего 4 раза).

W2: При использовании автоматического промывочного устройства заправьте его рабочим раствором промывочного буфера **WASH** и промойте лунки 5 раз. Следите за тем, чтобы вошер целиком заполнял лунки жидкостью и полностью удалял ее через каждые 30 секунд (остаток жидкости должен быть менее 15 мкл).

W3: После окончания промывки удалите остатки жидкости из лунок, постукивая перевернутым планшетом о фильтровальную бумагу.

Схема проведения анализа

Перед использованием все реагенты и образцы должны быть комнатной температуры.

Подготовка образцов:

Разведите сыворотки пациентов в соотношении 1:100 IgG буфером для разведения образцов **DIL-G 5121**. Например, 10 мкл сыворотки добавьте к 1 мл буфера **DIL-G 5121** и тщательно перемешайте.

Разведенные образцы до проведения анализа могут храниться в течение 48 часов при температуре 2-8 °C.

Контроли готовы к использованию и разведения не требуют.

Стадия 1 Внесите в лунки:	Лунка [объем жидкости в мкл]			
	A1 бланк	B1/C1 Отриц. контроль NC	D1/G1 Полож. контроли CC PC	H1... Образец
NC в две лунки	--	100	--	--
CC в две лунки, D1/E1	--	--	100	--
PC в две лунки, F1/G1	--	--	100	--
Разведенные образцы	--	--	--	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 4 раза, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350

Стадия 2				
Внесите в лунки:				
Конъюгат анти-IgG CON	--	100	100	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 5 раз, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 3				
Внесите в лунки:				
Субстратный реагент SUB 5103	100	100	100	100
Инкубируйте 15 минут в темноте при 17-25 °C (см. P8).				
Добавьте стоп-реагент STOP 5104	100	100	100	100
Тщательно перемешайте.				
Обнулите планшетный фотометр (например, HUMAREADER) по лунке A1 с бланком.				
После добавления стоп-реагента как можно быстрее (в течение <u>не более чем 30 минут</u>) измерьте оптическую плотность при длине волны 450 нм , используя (по возможности) референтную длину волны 630-690 нм.				

РАСЧЕТ КОНТРОЛЬНЫХ ВЕЛИЧИН И Cut-off

Среднее значение оптической плотности отрицательного контроля **NC** в лунках B1 и C1 – (**MNC**), cut-off контроля **CC** в лунках D1 и E1 (**MCC**) и положительного контроля **PC** в лунках F1 и G1 (**MPC**) рассчитывается по формулам:

$$MNC = \frac{ОП_{450}(B1) + ОП_{450}(C1)}{2} \quad MCC = \frac{ОП_{450}(D1) + ОП_{450}(E1)}{2} \quad MPC = \frac{ОП_{450}(F1) + ОП_{450}(G1)}{2}$$

Результаты теста могут считаться достоверными, если выполняются следующие условия:

1. ОП бланка в лунке A1 < 0,150
2. $MNC \leq MCC$
3. $MPC \geq 0,750$
4. $MPC : MNC \geq 2,5$

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Если $ОП_{450}$ в лунке с исследуемой сывороткой $\geq MCC + 15\%$, результат считается **положительным по анти-ВК IgG**.
- Если $ОП_{450}$ в лунке с исследуемой сывороткой $< MCC - 15\%$, результат считается **отрицательным по анти-ВК IgG**.

В силу физиологической и аналитической изменчивости, значения, лежащие в пределах 15% диапазона по обе стороны cut-off (**MCC**), являются **неопределенными** (серая зона). Образцы, показавшие неопределенный результат, рекомендуется проанализировать повторно, параллельно со свежей сывороткой, взятой через 7-14 дней, ставя каждую из сывороток в дубликатах. Для интерпретации результатов следует использовать изменение уровня специфических антител.

Количественное определение анти-ВК IgG антител в образцах пациентов

Для количественной оценки содержания IgG антител к вирусу краснухи положительные результаты могут быть выражены в Международных единицах (МЕ/мл). В этом случае необходимо построить калибровочный график, откладывая по оси ординат средние величины оптической плотности $ОП_{450}$ **MCC** и **MPC**, а по оси абсцисс – соответствующие им концентрации специфических IgG (15 и 100 МЕ/мл). Проходящая через две точки калибровочная прямая позволяет определить концентрацию специфических IgG антител в образце по его $ОП_{450}$.

При количественном определении IgG антител, сыворотки пациентов с $ОП_{450}$ выше, чем у положительного контроля (100 МЕ/мл), следует дополнительно разбавить IgG буфером для разведения образцов и проанализировать повторно.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сведения об аналитических характеристиках ИФА теста Краснуха IgG фирмы HUMAN можно найти в Отчете об испытаниях, опубликованном в Интернете на сайтах:

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-rubg.pdf>

или

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-rubg.pdf>

Примечание

Компоненты набора стабильны до окончания указанного срока годности даже после вскрытия их упаковки. Тем не менее, контаминация реагента зависит от количества отборов реагентов. 60-дневный срок использования реагентов установлен из соображения надежности получения результатов.

При работе с набором следует обеспечить постоянное соблюдение в лаборатории основных требований GLP (надлежащей лабораторной практики).

Данные требования в т.ч. включают: необходимость плотно закрывать флаконы их собственными крышками немедленно после отбора реагентов; отбирать только необходимое количество реагента, если предполагается его соприкосновение с другими растворами, способными вызвать контаминацию, например образцами пациентов; как можно быстрее возвращать исходные реагенты, если они не используются, в стандартные условия хранения (2-8 °C).

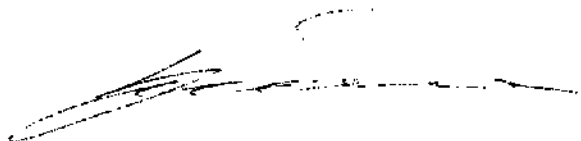
Всегда должно проверяться соблюдение условий достоверности результатов теста.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

«УТВЕРЖДАЮ»

Исполнительный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»П.Г. Каленик
июня 2009 г.**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

Набор реагентов для определения антител IgM к краснухе (Rubella IgM)
производства фирмы HUMAN GmbH (Германия)

Краснуха IgM (RUBELLA IgM)

Иммуноферментный тест для качественного определения антител класса IgM к вирусу краснухи в сыворотке крови человека

Набор рассчитан на 96 определений

IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор RUBELLA IgM ELISA предназначен для определения иммуноглобулинов класса G (IgM) против *Rubella virus* в сыворотке крови человека.

Краснуха (*Rubella*) – вирусное заболевание, характеризующееся незначительной экзематозной кожной сылью; часто протекает субклинически. Однако при внутриутробном заражении плода *Rubella virus* может вызывать развитие синдрома врожденной краснухи и приводить к внутриутробной гибели плода, возникновению катаракты, аномалий развития, глухоте и задержке умственного развития.

Выявление у беременных (в первом триместре) специфических антител класса IgM к вирусу краснухи является весомым доказательством наличия врожденной инфекции.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение антител класса IgM к вирусу краснухи (анти-ВК IgM) осуществляется классическим методом двухстадийного непрямого иммуноферментного анализа. Антигенный материал, выделенный из клеточной культуры, зараженной вирусом краснухи (ВК), адсорбирован на лунках микропланшета. На первой стадии инкубации антитела к ВК, содержащиеся в контролях и исследуемых образцах, связываются с иммобилизованными антигенами (ВК АГ). После промывки, удаляющей не связавшиеся компоненты сывороток, в лунки добавляется конъюгат, представляющий собой антитела к IgM человека, меченые пероксидазой хрена (HRP). В результате инкубации (стадия 2) конъюгат специфически связывается на поверхности лунок с антителами класса IgM, образуя типоспецифические иммунокомплексы. Для **устранения влияния ревматоидного фактора и конкуренции с IgG антителами**, буфер для разведения образцов содержит антитела к IgG человека.

После повторной промывки, удаляющей не связавшийся конъюгат, в лунки вносится субстрат (стадия 3). Ферментативная реакция пероксидазы с субстратом ТМБ приводит к образованию окрашенного продукта, который меняет цвет с синего на желтый после добавления стоп-реагента. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации анти-ВК IgM антител в образце и может быть измерена на микропланшетном фотометре с длиной волны 450 нм (например, приборы линии HUMAREADER или ELISYS производства фирмы HUMAN). Результат интерпретируется как положительный или отрицательный при сравнении с расчетным значением уровня отсечения cut-off.

МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ И ИХ СОСТАВ

MIC	Стрипы 8-луночные (код RUB M, в рамке-держателе) Стрипы, разделяемые на отдельные лунки, с иммобилизованным очищенным антигеном ВК; в упаковке с влагопоглотителем	12 шт.
NC	Краснуха IgM отрицательный контроль (зеленая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
PC	Краснуха IgM положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
DIL-M 5111	IgM буфер для разведения образцов (синяя крышка) Готовый к использованию 0,01 М фосфатный буфер, <u>зеленого цвета</u> ; содержит 8 г/л хлорида натрия, 10 г/л альбумина и козы антитела к IgG человека; pH 6,5±0,2	1×100 мл
CON	Конъюгат анти-IgM (белая крышка) Готовый к использованию раствор кроличьих антител к IgM человека, меченых	1×12 мл

пероксидазой хрена, красного цвета

WS 5102	Промывочный раствор (белая крышка) Концентрат (на 1000 мл готового раствора, содержащего 10 ммоль/л трис-солевого буфера и 8 г/л хлорида натрия; pH 7,2±0,2)	1×50 мл
SUB 5103	Субстратный реагент (черная крышка) Готовый к использованию, бесцветный или светло-голубой, содержит 1,2 ммоль/л 3,3',5,5' тетраметилбензидина (ТМБ) и 3 ммоль/л перекиси водорода; pH 3,7±0,2	1×13 мл
STOP 5104	Стоп-реагент (красная крышка) Готовый к использованию, содержит 0,5М серную кислоту	1×15 мл
	Клейкая пленка для стрипов	2 шт.

- Общее содержание консервантов в реагентах составляет < 0,1%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не пипетируйте реагенты ртом, не курите, не принимайте пищи во время исследования. Избегайте контакта с кожей и слизистыми. Обращайтесь со всеми образцами и контролями как с потенциально инфекционными материалами. Проверка (на уровне доноров) контролей, входящих в состав набора, на наличие антител к ВИЧ 1 и 2, вирусу гепатита С, а также HBsAg, дала отрицательный результат. В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP) пользуйтесь защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

После исследования все материалы, контактировавшие с образцами пациентов или контролями, должны быть инаktivированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при температуре 121 °С, замачиванием в 5% растворе гипохлорита натрия в течение 1 часа или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо иным лабораторным дезинфектантом).

Стоп-реагент **STOP** содержит серную кислоту, способную вызвать ожоги глаз, кожи и слизистых покровов. При контакте с этим реагентом тщательно промойте пораженное место большим количеством проточной воды, после чего обратитесь к врачу.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетках, при хранении при 2-8 °С.

После вскрытия флаконов реагенты следует хранить при температуре 2-8 °С; они пригодны к использованию в течение 60 дней (см. также раздел ПРИМЕЧАНИЕ).

Стрипы **MIC** (код RUB M)

- Планшет, состоящий из 12 стрипов в рамке-держателе, запаян под вакуумом в пластиковый металлизированный пакет с влагопоглотителем.
- Перед вскрытием упаковку с планшетом следует прогреть до комнатной температуры.
- Неиспользованные стрипы необходимо вернуть обратно в пакет с влагопоглотителем, плотно закрыть его герметизирующей застежкой и хранить в таком виде при температуре 2-8 °С.

Не касайтесь пальцами дна лунок и их верхней кромки.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием дайте всем реагентам прогреться до комнатной температуры. (15-25 °С). Неиспользуемые реагенты следует всегда хранить при температуре 2-8 °С.

Примечание: Реагенты общего назначения **DIL-M 5111**, **WS 5102**, **SUB 5103** и **STOP 5104** взаимозаменяемы между различными партиями (лотами) набора и различными наборами фирмы HUMAN. В ИФА тестах на IgM антитела используйте только IgM буфер для разведения образцов **DIL-M 5111**.

Все остальные реагенты **специфичны к конкретной партии (лоту) набора** и не могут быть заменены реагентами из другой партии. При работе с данным набором не допускается использование каких-либо реагентов других производителей.

Рабочий промывочный раствор **WASH**

- Для получения рабочего промывочного раствора разведите концентрат **WS 5102** в соотношении 1+20 свежей деионизированной водой (например: 50 мл концентрата **WS 5102** + 1000 мл деионизированной воды = 1050 мл).
- Стабильность: в течение 60 дней при 15 - 25 °С.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сыворотки

Не используйте сыворотки с сильным гемолизом или липемией.

Нативные сыворотки можно хранить в течение 7 дней при температуре 2-8 °С, более длительное хранение возможно в замороженном виде при температуре -20 °С. Допускается **только однократное замораживание**. Оттаявшие образцы необходимо гомогенизировать. При наличии в сыворотках взвешенных частиц удалите последние центрифугированием или фильтрацией.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Внимание! Точность полученных результатов зависит от строгого следования приведенной ниже процедуре исследования.

Предварительные замечания

P1: Не путайте крышки от флаконов, чтобы избежать риска контаминации. Не пользуйтесь просроченными реагентами.

P2: Не пользуйтесь реагентами, если они загрязнены, либо имеют запах или вид, отличный от обычного.

P3: Аккуратно впишите номера образцов и контролей в листок-формуляр, приложенный к набору.

P4: Подсчитайте количество лунок, необходимое для данного исследования. Выньте необходимое количество стрипов **MIC** или отдельных лунок из упаковки и вставьте их в рамку-держатель.

P5: Исследование контролей должно проводиться в дубликатах. Вносить образцы и контроли необходимо как можно ближе ко дну лунки.

P6: Всегда вносите реагенты в лунки в одном и том же порядке, чтобы свести к минимуму разброс по времени реакции между отдельными лунками. Это важно для воспроизводимости результатов. Общее время пипетирования образцов не должно превышать 5 минут. В противном случае, контроли следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины образцов. Если для анализа используется больше одного планшета, для каждого из них строится отдельная калибровочная кривая.

P7: Любые воздушные пузырьки в лунках должны быть удалены до начала инкубации или измерения оптической плотности.

P8: Инкубацию с субстратным реагентом проводят в темноте. Добавление рабочего раствора субстрата **SUB** инициирует процесс развития окраски, который прерывается при добавлении стоп-реагента **STOP**.

P9: Помутнение буфера для разведения образцов **DIL-M** после добавления в него образца не влияет на результаты исследования.

Методика промывки

Промывка лунок является **исключительно важной стадией**. Недостаточная промывка ведет к снижению точности полученных результатов и завышению оптической плотности.

W1: Снимите со стрипов защитную пленку, после чего удалите жидкость из лунок в 5% раствор гипохлорита натрия и внесите в них рабочий раствор промывочного буфера **WASH**. Через 30 секунд удалите жидкость из лунок и повторите промывку еще 3 раза (всего 4 цикла).

W2: При использовании автоматического промывочного устройства заправьте его рабочим раствором промывочного буфера **WASH** и промойте лунки еще 4 раза (всего 5 раз). Следите за тем, чтобы вошер целиком заполнял лунки жидкостью и полностью удалял ее через каждые 30 секунд (остаток жидкости должен быть менее 15 мкл).

W3: После окончания промывки удалите остатки жидкости из лунок, постукивая перевернутым планшетом о фильтровальную бумагу.

Схема проведения анализа

Перед использованием все реагенты и образцы должны быть прогреты до комнатной температуры.

Подготовка образцов:

Разведите сыворотки пациентов в соотношении 1+100 IgM буфером для разведения образцов **DIL-M 5111**. Например, 10 мкл сыворотки добавьте к 1 мл буфера **DIL-M 5111** и тщательно перемешайте (см. P9).

Прежде, чем продолжать исследование, **разведенные образцы необходимо выдерживать, как минимум, 5 минут при комнатной температуре**.

Разведенные образцы до проведения анализа могут храниться в течение 24 часов при температуре 2-8 °C.

Контроли готовы к использованию и **разведения не требуют**.

Стадия 1 Внесите в лунки:	Лунка [объем жидкости в мкл]			
	A1 бланк	B1/C1 Отриц. контроль NC	D1/E1 Полож. контроль PC	F1... Образец
NC в две лунки	--	100	--	--
PC в две лунки	--	--	100	--
Разведенные образцы	--	--	--	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 4 раза, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного	350	350	350	350

буфера WASH				
Стадия 2 Внесите в лунки:				
Конъюгат анти-IgM CON	–	100	100	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 5 раз, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 3 Внесите в лунки:				
Субстратный реагент SUB 5103	100	100	100	100
Инкубируйте 15 минут при 17-25 °C в темноте (см. P8).				
Добавьте стоп-реагент STOP 5104	100	100	100	100
Тщательно перемешайте.				
Обнулите планшетный фотометр (например, HUMAREADER) по лунке A1 с бланком.				
После добавления стоп-реагента как можно быстрее (в течение не более чем 30 минут) измерьте оптическую плотность при длине волны 450 нм, используя (по возможности) референтную длину волны 630-690 нм.				

РАСЧЕТ КОНТРОЛЬНЫХ ВЕЛИЧИН И Cut-off

Среднее значение оптической плотности отрицательного контроля **NC** в лунках B1 и C1 – (**MNC**) и положительного контроля **PC** в лунках D1 и E1 (**MPC**) рассчитывается по формулам:

$$MNC = \frac{ОП_{450}(B1) + ОП_{450}(C1)}{2}; \quad MPC = \frac{ОП_{450}(D1) + ОП_{450}(E1)}{2}$$

Значение уровня отсечения, cut-off (**COV**), рассчитывается по формуле:

$$COV = MNC + (0,2 \times MPC)$$

Результаты теста могут считаться достоверными, если выполняются следующие условия:

1. ОП бланка в лунке A1 < 0,150
2. **MNC** ≤ 0,250
3. **MPC** ≥ 0,400
4. **MPC** : **MNC** ≥ 3

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Если ОП₄₅₀ в лунке с исследуемой сывороткой ≥ **COV** + 15%, результат считается **положительным по анти-ВК IgM**.
- Если ОП₄₅₀ в лунке с исследуемой сывороткой < **COV** - 15%, результат считается **отрицательным по анти-ВК IgM**.

В силу физиологической и аналитической изменчивости, значения, лежащие в пределах 15% диапазона по обе стороны cut-off, являются **неопределенными** (серая зона). Образцы, показавшие неопределенный результат, рекомендуется проанализировать повторно, параллельно со свежей сывороткой, взятой через 7-14 дней, ставя каждую из сывороток в дубликатах. При интерпретации результатов IgM теста необходимо также учитывать тенденцию изменения уровня специфических антител, в том числе и антител класса IgG (для этого можно использовать тест HUMAN ELISA IgG), равно как анамнез и данные других исследований. Образцы, повторно давшие положительный или неопределенный результат, необходимо исследовать подтверждающим тестом.

Сыворотки пациентов с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна-Барра (ВЭБ), могут показать положительный результат, что, вероятно, связано с реактивацией IgM-иммунного ответа к вирусу краснухи. Таким образом, прежде чем интерпретировать результаты теста, следует исключить возможное наличие ВЭБ инфекции.

При отсутствии фотометра возможен визуальный учет результатов, при этом необходимо соблюдение следующих условий:

- Лунка A1 с бланком должна быть бесцветной на глаз.
- Образец считается положительным, если окраска лунки с образцом явно интенсивнее, чем окраска лунок B1/C1 с отрицательным контролем **NC**.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сведения об аналитических характеристиках ИФА теста Краснуха IgM фирмы HUMAN можно найти в Отчете об испытаниях, опубликованном в Интернете на сайтах:

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-rubm.pdf> или
<http://www.human.de.com/data/gb/vr/el-rubm.pdf>

Примечание

Компоненты набора стабильны до окончания указанного срока годности даже после вскрытия их упаковки. Тем не менее, контаминация реагента зависит от количества отборов реагентов. 60-дневный срок использования реагентов установлен из соображения надежности получения результатов.

При работе с набором следует обеспечить постоянное соблюдение в лаборатории основных требований GLP (надлежащей лабораторной практики).

Данные требования в т.ч. включают: необходимость плотно закрывать флаконы их собственными крышками немедленно после отбора реагентов; отбирать только необходимое количество реагента, если предполагается его соприкосновение с другими растворами, способными вызвать контаминацию, например образцами пациентов; как можно быстрее возвращать исходные реагенты, если они не используются, в стандартные условия хранения (2-8 °C).

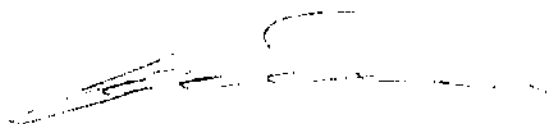
Всегда должно проверяться соблюдение условий достоверности результатов теста.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции

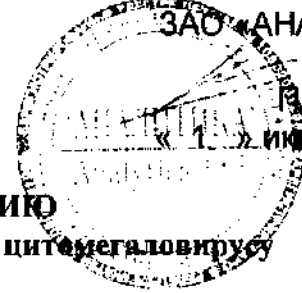


К.И. Бланк

«УТВЕРЖДАЮ»

Исполнительный директор

ЗАО «АНАЛИТИКА»



В.Г. Каленик

11 июня 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Набор реагентов для определения антител IgG к цитомегаловирусу
(Cytomegalovirus (CMV) IgG)
производства фирмы HUMAN GmbH (Германия)**

Цитомегаловирус IgG (CMV IgG)

Иммуноферментный тест для качественного определения антител класса IgG к цитомегаловирусу в сыворотке крови человека

Набор рассчитан на 96 определений

**ВВЕДЕНИЕ**

Инфекция, вызываемая цитомегаловирусом (ЦМВ), относится к числу широко распространенных. Около 50% людей, достигших 20 лет, имеют специфические антитела к ЦМВ. Инфекция передается половым путем, а также через кровь, слюну, мочу и материнское молоко.

Характерной чертой цитомегаловирусной инфекции является возможность переноса ее от зараженной матери плоду во время беременности. При этом большинство младенцев рождается внешне здоровыми, но у 25% впоследствии развиваются клинические симптомы заболевания, проявляющиеся в задержке физического и психического развития. У взрослых лиц ЦМВ инфекция обычно протекает бессимптомно или сопровождается признаками общей интоксикации: лихорадкой, головной болью, миалгией. Нередко развивается мононуклеоз. Следствием этого является сложность дифференциации ЦМВ инфекции от инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна-Барр, и токсоплазмоза, что определяет значимость серодиагностики.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение антител класса IgG к цитомегаловирусу осуществляется методом двухстадийного непрямого иммуноферментного анализа. Антигенный материал, представляющий собой дериват клеточной культуры, зараженной ЦМВ, адсорбирован на лунках микропланшета. При внесении в лунки контролей и проб, находящиеся в них антитела к ЦМВ связываются с иммобилизованными антигенами. После промывки, удаляющей несвязавшиеся компоненты сывороток, в лунки добавляется конъюгат, представляющий собой антитела к IgG человека, меченые пероксидазой хрена (HRP). В результате инкубации на поверхности лунок образуется комплекс:

ЦМВ АГ ↔ анти-ЦМВ IgG ↔ анти-IgG-HRP

После повторной промывки, удаляющей не связавшийся конъюгат, в лунки вносится субстрат. Ферментативная реакция пероксидазы с субстратом ТМБ приводит к образованию окрашенного продукта, который меняет цвет с голубого на желтый после добавления стоп-реагента. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации в пробе IgG антител к цитомегаловирусу и может быть измерена на микропланшетном фотометре с длиной волны 450 нм (например, HUMAREADER).

Результат интерпретируется, как положительный или отрицательный, при сравнении с расчетным значением уровня отсечения (cut-off), либо выражается в относительных единицах фирмы HUMAN (HU/мл) или единицах Института Пауля-Эрлиха, ФРГ (Paul-Ehrlich-Institute Units, PEI U/мл), с расчетом по положительному контролю в качестве калибратора.

МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор содержит реагенты, достаточные для выполнения 96 определений:

MIC	Стрипы 8-луночные (код CMV G, в рамке-держателе) Стрипы, разделяемые на отдельные лунки, с иммобилизованным ЦМВ антигеном; в упаковке с влагопоглотителем	12
NC	ЦМВ IgG отрицательный контроль (зеленая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
PC	ЦМВ IgG положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки; 9,0 Е/мл, откалиброван по стандартному образцу Института Пауля-Эрлиха (соответствует концентрации 900 Международных единиц (МЕ)/мл в нативной сыворотке)	1×2,5 мл

DIL-G 5121	Буфер для разведения IgG образцов (белая крышка) Готовый к использованию 0,01 М фосфатный буфер, <u>зеленого цвета</u> , содержит 8 г/л хлорида натрия и 10 г/л альбумина; pH 6,5±0,2	1×100 мл
CON	Конъюгат анти-IgG (белая крышка) Готовый к использованию раствор кроличьих антител к IgG человека, меченых пероксидазой хрена, <u>красного цвета</u>	1×12 мл
WS 5102	Промывочный раствор (белая крышка) Концентрат (на 1000 мл готового раствора, содержащего 10 ммоль/л трис-солевого буфера и 8 г/л хлорида натрия; pH 7,2±0,2)	1×50 мл
SUB 5103	Субстратный реагент (черная крышка) Готовый к использованию, бесцветный или голубоватый; содержит 1,2 ммоль/л 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и 3 ммоль/л перекиси водорода; pH 3,7±0,2	1×13 мл
STOP 5104	Стоп-реагент (красная крышка) Готовый к использованию, содержит 0,5М серную кислоту	1×15 мл
	Пленка для заклейки стрипов	2

- Общее содержание консервантов в реагентах составляет < 0,1%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не пипетируйте реагенты ртом, не курите, не принимайте пищи во время исследования. Избегайте контакта с кожей и слизистыми. Проверка контролей, входящих в состав набора, на наличие антител к ВИЧ 1 и 2, вирусу гепатита С, а также HBsAg, дала отрицательный результат. В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP) пользуйтесь защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

После исследования все материалы, контактировавшие с образцами пациентов или контролями, должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при температуре 121 °С, замачиванием в 5% растворе гипохлорита натрия в течение 1 часа или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо иным лабораторным дезинфектантом).

Стоп-реагент **STOP** содержит серную кислоту, способную вызвать ожоги глаз, кожи и слизистых покровов. При контакте с этим реагентом тщательно промойте пораженное место большим количеством проточной воды, после чего обратитесь к врачу.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетках, в условиях хранения при температуре 2-8 °С.

После вскрытия флаконов реагенты пригодны к использованию в течение 2 месяцев в условиях хранения при температуре 2-8 °С.

Стрипы **MIC** (код CMV G)

- Планшет, состоящий из 12 стрипов в рамке-держателе, запаян под вакуумом в пластиковый металлизированный пакет с влагопоглотителем.
- Перед вскрытием упаковку с планшетом следует прогреть до комнатной температуры.
- Неиспользованные стрипы необходимо вернуть обратно в пакет с влагопоглотителем, плотно закрыть его герметизирующей застежкой и хранить в таком виде при температуре 2-8 °С.

Не касайтесь пальцами дна лунок и их верхней кромки.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием дайте всем реагентам прогреться до комнатной температуры. (15-25 °С). Неиспользуемые реагенты следует всегда хранить при температуре 2-8 °С.

Примечание: Реагенты общего назначения **DIL-G 5121**, **WS 5102**, **SUB 5103** и **STOP 5104** взаимозаменяемы между различными партиями (лотами) набора и различными наборами фирмы HUMAN. В ИФА тестах на IgG антитела используйте только IgG буфер для разведения образцов **DIL-G 5121**.

Все остальные реагенты специфичны к конкретной партии (лоту) набора и не могут быть заменены реагентами из другой партии. При работе с данным набором не допускается использование каких-либо реагентов других производителей.

Рабочий раствор промывочного буфера **WASH**

- Для получения рабочего раствора промывочного буфера разведите концентрат **WS 5102** в соотношении 1+20 свежей дистиллированной водой (например: 50 мл концентрата **WS 5102** + 1000 мл дистиллированной воды = 1050 мл).
- Стабильность: до 60 дней при температуре 15-25 °С.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сыворотки

Не используйте сыворотки с сильным гемолизом или липемией.

Нативные сыворотки могут храниться в течение 7 дней при температуре 2-8 °С, более длительное хранение возможно в замороженном виде при температуре -20 °С. Допускается только однократное замораживание. Оттаявшие образцы необходимо гомогенизировать. При наличии в сыворотках взвешенных частиц удалите последние центрифугированием или фильтрацией.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Внимание! Точность полученных результатов зависит от строгого следования приведенной ниже процедуре исследования.

Предварительные замечания

P1: Не смешивайте реагенты из разных партий наборов. Не путайте крышки от флаконов. Не пользуйтесь просроченными реагентами.

P2: Не пользуйтесь реагентами, если они загрязнены, либо имеют запах или вид, отличный от обычного.

P3: Аккуратно впишите номера контролей и образцов в листок-формуляр, приложенный к оригиналу инструкции.

P4: Подсчитайте количество лунок, необходимое для данного исследования. Выньте необходимое количество стрипов **MIC** или отдельных лунок из упаковки и вставьте их в рамку-держатель.

P5: Исследование контролей должно проводиться в дубликатах. Вносить образцы и контроли необходимо как можно ближе к дну лунки.

P6: Всегда вносите реагенты в лунки в одном и том же порядке, чтобы свести к минимуму разброс по времени реакции между отдельными лунками. Это важно для воспроизводимости результатов. Общее время пипетирования не должно превышать 5 минут. В противном случае, контроли следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины образцов. Если для анализа используется больше одного планшета, контроли следует ставить с каждым из них.

P7: Любые воздушные пузырьки в лунках должны быть удалены до начала инкубации или измерения оптической плотности.

P8: Добавление рабочего раствора субстрата **SUB** инициирует процесс развития окраски, который прерывается при добавлении стоп-реагента **STOP**. Во время развития окраски инкубируйте планшеты в темноте.

Методика промывки

Промывка лунок является исключительно важной стадией. Недостаточная промывка ведет к снижению точности полученных результатов и завышению оптической плотности.

W1: Снимите со стрипов защитную пленку, после чего удалите жидкость из лунок в 5% раствор гипохлорита натрия и внесите в них рабочий раствор промывочного буфера **WASH**. Через 30 секунд удалите жидкость из лунок и повторите промывку еще 3 раза.

W2: При использовании автоматического промывочного устройства заправьте его рабочим раствором промывочного буфера **WASH** и промойте лунки 4 или 5 раз. Следите за тем, чтобы вошер целиком заполнял лунки жидкостью и полностью удалял ее через каждые 30 секунд (остаток жидкости должен быть менее 15 мкл).

W3: После окончания промывки удалите остатки жидкости из лунок, постукивая перевернутым планшетом о фильтровальную бумагу.

Схема проведения анализа

Перед использованием все реагенты и образцы должны быть прогреты до комнатной температуры.

Подготовка образцов:

Разведите сыворотки пациентов в соотношении 1+100 IgG буфером для разведения образцов **DIL-G 5121**. Например, 10 мкл сыворотки добавьте к 1 мл буфера **DIL-G 5121** и тщательно перемешайте.

Разведенные образцы до проведения анализа могут храниться в течение 48 часов при температуре 2-8 °С.

Контроли готовы к использованию и разведения не требуют.

Стадия 1	Лунка [объем жидкости в мкл]			
	A1 бланк	B1/C1 Отриц. контроль NC	D1/E1 Полож. контроль PC	F1... Образец
Внесите в лунки:				
NC в две лунки	--	100	--	--
PC в две лунки	--	--	100	--
разведенные образцы	--	--	--	100

Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 4 раза, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350

Стадия 2				
Внесите в лунки:				
Конъюгат анти-IgG CON	--	100	100	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 5 раз, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 3				
Внесите в лунки:				
Субстратный реагент SUB 5103	100	100	100	100
Инкубируйте 15 минут при 17-25 °C в темноте (см. P8).				
Добавьте стоп-реагент STOP 5104	100	100	100	100
Тщательно перемешайте.				
Обнулите планшетный фотометр (например, HUMAREADER) по лунке A1 с бланком.				
После добавления стоп-реагента как можно быстрее (в течение не более чем 30 минут) измерьте оптическую плотность при длине волны 450 нм, используя (по возможности) референтную длину волны 630-690 нм.				

РАСЧЕТ КОНТРОЛЬНЫХ ВЕЛИЧИН И Cut-off

Среднее значение оптической плотности отрицательного контроля **NC** в лунках B1 и C1 – (**MNC**) и положительного контроля **PC** в лунках D1 и E1 (**MPC**) рассчитывается по формулам:

$$MNC = \frac{ОП_{450}(B1) + ОП_{450}(C1)}{2} \quad MPC = \frac{ОП_{450}(D1) + ОП_{450}(E1)}{2}$$

Значение уровня отсечения, cut-off (COV), рассчитывается по формуле:

$$COV = MNC + (0,1 \times MPC)$$

Результаты теста могут считаться достоверными, если выполняются следующие условия:

1. ОП бланка в лунке A1 < 0,150
2. **MNC** ≤ 0,250
3. **MPC** ≥ 0,750
4. **MPC** : **MNC** ≥ 5

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Если оптическая плотность в лунке с исследуемой сывороткой больше или равна значению **cut-off +15%**, результат считается **положительным**.
- Если оптическая плотность в лунке с исследуемой сывороткой меньше значения **cut-off –15%**, результат считается **отрицательным**.

В силу физиологической и аналитической изменчивости, значения, лежащие в пределах 15% диапазона по обе стороны cut-off, являются **неопределенными** (серая зона). Образцы, показавшие неопределенный результат, рекомендуется проанализировать повторно, параллельно со свежей сывороткой, взятой через 7-14 дней. При интерпретации результатов IgG теста необходимо учитывать также тенденцию изменения уровня специфических антител, равно как анамнез и данные других исследований. Положительные пробы, а также пробы, повторно давшие неопределенный результат, необходимо исследовать подтверждающим тестом.

Визуальный учет результатов

При отсутствии фотометра возможен визуальный учет результатов определения IgG антител к ЦМВ, при этом должны быть соблюдены следующие условия:

- Лунка А1 с бланком должна быть бесцветной на глаз.
- Образец считается положительным, если окраска лунки с ним явно интенсивнее, чем окраска лунок В1/С1 с отрицательным контролем **NC**.

Расчет в единицах HUMAN или PEI

Положительные результаты ЦМВ IgG теста могут быть выражены в специальных единицах фирмы HUMAN (HU/мл) или Института Пауля-Эрлиха (PEI U/мл):

$$\text{HU/мл} = \frac{\text{ОП}_{\text{образца}}}{\text{МРС}} \times 100 \quad \text{или} \quad \text{PEI U/мл} = \frac{\text{ОП}_{\text{образца}}}{\text{МРС}} \times 900$$

где ОП_{образца} - среднее значение оптической плотности ОП₄₅₀ в лунках с образцом;

МРС - среднее значение оптической плотности ОП₄₅₀ в лунках с положительным контролем.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сведения об аналитических характеристиках ИФА теста CMV IgG фирмы HUMAN можно найти в Отчете об испытаниях, опубликованном в Интернете на сайтах:

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-cmvq.pdf>

или

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-cmvq.pdf>

ПРИМЕЧАНИЕ

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.

Компоненты набора стабильны до окончания указанного срока годности даже после вскрытия их упаковки. Тем не менее, контаминация реагента зависит от количества отборов реагентов. 60-дневный срок использования реагентов установлен из соображения надежности получения результатов.

При работе с набором следует обеспечить постоянное соблюдение основных требований GLP (надлежащей лабораторной практики).

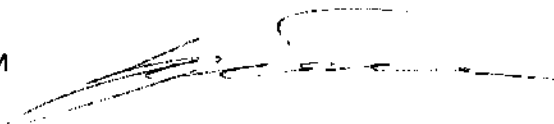
Данные требования в т.ч. включают: необходимость плотно закрывать флаконы немедленно после отбора реагентов; не возвращать во флакон отобранный реагент, если он соприкасался с поверхностями или другими растворами, способными вызвать контаминацию; как можно быстрее возвращать реагенты в стандартные условия хранения (2-8 °C).

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

«УТВЕРЖДАЮ»
Исполнительный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

П. Л. Каленик
« 1 » июня 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для определения антител IgM к цитомегаловирусу
(Cytomegalovirus (CMV) IgM)
производства фирмы HUMAN GmbH (Германия)

Цитомегаловирус IgM (CMV IgM)

Иммуноферментный тест для качественного определения антител класса IgM к цитомегаловирусу в сыворотке крови человека

Набор рассчитан на 96 определений

IVD

ВВЕДЕНИЕ

Инфекция, вызываемая цитомегаловирусом (ЦМВ), относится к числу широко распространенных. Около 50% людей, достигших 20 лет, имеют специфические антитела к ЦМВ. Инфекция передается половым путем, а также через кровь, слюну, мочу и материнское молоко.

Характерной чертой цитомегаловирусной инфекции является возможность переноса ее от зараженной матери плоду во время беременности. При этом большинство младенцев рождается внешне здоровыми, но у 25% впоследствии развиваются клинические симптомы заболевания, проявляющиеся в задержке физического и психического развития. У взрослых лиц ЦМВ инфекция обычно протекает бессимптомно или сопровождается признаками общей интоксикации: лихорадка, головная боль, миалгия. Нередко развивается мононуклеоз. Следствием этого является сложность дифференциации цитомегаловирусной инфекции от других инфекций и клинических синдромов со сходными симптомами, что определяет значимость серодиагностики.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение антител класса IgM к цитомегаловирусу (анти-ЦМВ IgM) осуществляется классическим методом двухстадийного непрямого иммуноферментного анализа. Лунки микропланшета, являющиеся твердой фазой, покрыты антигенами вируса (ЦМВ-АГ), полученными из клеточной культуры, зараженной ЦМВ. На первой стадии инкубации анти-ЦМВ IgM, присутствующие в исследуемых образцах или контролях, связываются в лунках с иммобилизованными на твердой фазе антигенами (ЦМВ-АГ). Для устранения влияния ревматоидного фактора и конкуренции с IgG антителами, буфер для разведения образцов содержит антитела к IgG человека.

В конце инкубации не связавшиеся компоненты сывороток удаляют промыванием. На второй стадии инкубации в лунки добавляют конъюгат (антитела к IgM человека, меченные пероксидазой хрена), который специфически связывается с антителами класса IgM, в результате на поверхности лунок образуются иммунные комплексы IgM-типа.

После повторной промывки, удаляющей избыток конъюгата, в лунки вносится субстрат/ТМБ (стадия 3). Ферментативная реакция приводит к образованию окрашенного продукта, который меняет цвет с синего на желтый после добавления стоп-реагента. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgM антител к ЦМВ в исследуемом образце.

Величину оптической плотности в лунках с калибраторами и образцами измеряют на фотометре для планшетов (например, HUMAREADER), снабженном фильтром для длины волны 450 нм. Результат интерпретируют, как положительный или отрицательный при сравнении с расчетным значением уровня отсечения (cut-off).

МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ И ИХ СОСТАВ

MIC

Стрипы 8-луночные (код CMV M, в рамке-держателе)

12 шт.

Стрипы, разделяемые на отдельные лунки, с иммобилизованным ЦМВ антигеном, полученным методом культуры клеток; в упаковке с влагопоглотителем

NC	ЦМВ IgM отрицательный контроль (зеленая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
PC	ЦМВ IgM положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
DIL-M 5111	IgM буфер для разведения образцов (синяя крышка) Готовый к использованию 0,01 М фосфатный буфер, <u>зеленого цвета</u> ; содержит 8 г/л хлорида натрия, 10 г/л альбумина и козы антигела к IgG человека; pH 6,5±0,2	1×100 мл
CON	Конъюгат анти-IgM (белая крышка) Готовый к использованию раствор кроличьих антител к IgM человека, меченых пероксидазой хрена, <u>красного цвета</u>	1×12 мл
WS 5102	Промывочный раствор (белая крышка) Концентрат (на 1000 мл готового раствора, содержащего 10 ммоль/л трис-солевого буфера и 8 г/л хлорида натрия; pH 7,2±0,2)	1×50 мл
SUB 5103	Субстратный реагент (черная крышка) Готовый к использованию, бесцветный или светло-голубой, содержит 1,2 ммоль/л 3,3',5,5' тетраметилбензидина (ТМБ) и 3 ммоль/л перекиси водорода; pH 3,7±0,2	1×13 мл
STOP 5104	Стоп-реагент (красная крышка) Готовый к использованию, содержит 0,5М серную кислоту	1×15 мл
	Клейкая пленка для стрипов	2 шт.

- Общее содержание консервантов в реагентах составляет < 0,1%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не пипетируйте реагенты ртом, не курите, не принимайте пищи во время исследования. Избегайте контакта с кожей и слизистыми. Проверка контролей, входящих в состав набора, на наличие антител к ВИЧ 1 и 2, вирусу гепатита С, а также HBsAg, дала отрицательный результат. В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP) пользуйтесь защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

После исследования все материалы, контактировавшие с образцами пациентов или контролями, должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при температуре 121 °С, замачиванием в 5% растворе гипохлорита натрия в течение 1 часа или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо иным лабораторным дезинфектантом).

Стоп-реагент **STOP** содержит серную кислоту, способную вызвать ожоги глаз, кожи и слизистых покровов. При контакте с этим реагентом тщательно промойте пораженное место большим количеством проточной воды, после чего обратитесь к врачу.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетках, в условиях хранения при температуре 2-8 °С.

После вскрытия флаконов реагенты следует хранить при температуре 2-8 °С, и они пригодны к использованию в течение 2 месяцев.

Стрипы **MIC** (код CMV M)

- Планшет, состоящий из 12 стрипов в рамке-держателе, запаян под вакуумом в пластиковый металлизированный пакет с влагопоглотителем.
- Перед вскрытием упаковку с планшетом следует прогреть до комнатной температуры.
- Неиспользованные стрипы необходимо вернуть обратно в пакет с влагопоглотителем, плотно закрыть его герметизирующей застежкой и хранить в таком виде при температуре 2-8 °С.

Не касайтесь пальцами дна лунок и их верхней кромки.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием дайте всем реагентам прогреться до **комнатной температуры**. (15-25 °С). Неиспользуемые реагенты следует всегда хранить при температуре 2-8 °С.

Примечание: Реагенты общего назначения **DIL-M 5111**, **WS 5102**, **SUB 5103** и **STOP 5104** взаимозаменяемы между различными партиями (лотами) набора и различными наборами фирмы HUMAN. В ИФА тестах на IgM антитела используйте только IgM буфер для разведения образцов **DIL-M 5111**.

Все остальные реагенты **специфичны к конкретной партии (лоту)** набора и не могут быть заменены реагентами из другой партии. При работе с данным набором не допускается использование каких-либо реагентов других производителей.

Рабочий раствор промывочного буфера [WASH]

- Для получения рабочего раствора промывочного буфера разведите концентрат [WS 5102] в соотношении 1+20 свежей дистиллированной водой (например: 50 мл концентрата [WS 5102] + 1000 мл дистиллированной воды = 1050 мл).
- Стабильность: до 60 дней температуре 15-25 °C.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ**Сыворотки**

Не используйте образцы с сильным гемолизом или липемией.

Образцы могут храниться в течение 7 дней при температуре 2-8 °C, более длительное хранение возможно в замороженном виде при температуре -20 °C. Допускается **только однократное замораживание**. Оттаявшие образцы необходимо гомогенизировать. При наличии в сыворотках взвешенных частиц удалите последние центрифугированием или фильтрацией.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Внимание! Точность полученных результатов зависит от строгого следования приведенной ниже процедуре исследования.

Предварительные замечания

P1: Не смешивайте реагенты из разных партий наборов. Не путайте крышки от флаконов. Не пользуйтесь просроченными реагентами.

P2: Не пользуйтесь реагентами, если они загрязнены, либо имеют запах или вид, отличный от обычного.

P3: Аккуратно впишите номера контролей и образцов в листок-формуляр, приложенный к оригиналу инструкции.

P4: Подсчитайте количество лунок, необходимое для данного исследования. Выньте необходимое количество стрипов [MIC] или отдельных лунок из упаковки и вставьте их в рамку-держатель.

P5: Исследование контролей должно проводиться в дубликатах. Вносить образцы и контроли необходимо **как можно ближе ко дну лунки**.

P6: Всегда вносите реагенты в лунки в одном и том же порядке, чтобы свести к минимуму разброс по времени реакции между отдельными лунками. Это важно для воспроизводимости результатов. Общее время пипетирования не должно превышать 5 минут. В противном случае, контроли следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины образцов. Если для анализа используется больше одного планшета, контроли следует ставить с каждым из них.

P7: Любые воздушные пузырьки в лунках должны быть удалены до начала инкубации или измерения оптической плотности.

P8: Добавление рабочего раствора субстрата [SUB] инициирует процесс развития окраски, который прерывается при добавлении стоп-реагента [STOP]. Во время развития окраски инкубируйте планшет в темноте.

P9: Помутнение буфера для разведения образцов [DIL-M] после добавления в него образца не влияет на результаты исследования.

Методика промывки

Промывка лунок является исключительно важной стадией. Недостаточная промывка ведет к снижению точности полученных результатов и завышению оптической плотности.

W1: Снимите со стрипов защитную пленку, после чего удалите жидкость из лунок в 5% раствор гипохлорита натрия и внесите в них рабочий раствор промывочного буфера [WASH]. Через 30 секунд удалите жидкость из лунок и повторите промывку еще 3 раза (всего 4 раза).

W2: При использовании автоматического промывочного устройства заправьте его рабочим раствором промывочного буфера [WASH] и промойте лунки 4 (всего 5 раз). Следите за тем, чтобы вошер целиком заполнял лунки жидкостью и полностью удалял ее через каждые 30 секунд (остаток жидкости должен быть менее 15 мкл).

W3: После окончания промывки удалите остатки жидкости из лунок, постукивая перевернутым планшетом о фильтровальную бумагу.

Схема проведения анализа

Перед использованием все реагенты и образцы должны быть прогреты до комнатной температуры.

Подготовка образцов:

Разведите сыворотки пациентов в соотношении 1+100 IgM буфером для разведения образцов **DIL-M 5111**. Например, 10 мкл сыворотки добавьте к 1 мл буфера **DIL-M 5111** и тщательно перемешайте (см. P9).

Прежде, чем продолжать исследование, разведенные сыворотки необходимо выдержать, как минимум, 5 минут при комнатной температуре.

Разведенные образцы до проведения анализа могут храниться в течение 24 часов при температуре 2-8 °C.

Контроли готовы к использованию и разведения не требуют.

Стадия 1 Внесите в лунки:	Лунка [объем жидкости в мкл]			
	A1 бланк	B1/C1 Отриц. контроль NC	D1/E1 Полож. контроль PC	F1... Образец
NC в две лунки	--	100	--	--
PC в две лунки	--	--	100	--
разведенные образцы	--	--	--	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 4 раза, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 2				
Внесите в лунки:				
Конъюгат анти-IgM CON	--	100	100	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 5 раз, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 3				
Внесите в лунки:				
Субстратный реагент SUB 5103	100	100	100	100
Инкубируйте 15 минут при 17-25 °C (см. P8).				
Добавьте стоп-реагент STOP 5104	100	100	100	100
Тщательно перемешайте.				
Обнулите планшетный фотометр (например, HUMAREADER) по лунке A1 с бланком.				
После добавления стоп-реагента как можно быстрее (в течение не более чем 30 минут) измерьте оптическую плотность при длине волны 450 нм, используя (по возможности) референтную длину волны 630-690 нм.				

РАСЧЕТ КОНТРОЛЬНЫХ ВЕЛИЧИН И Cut-off

Среднее значение оптической плотности отрицательного контроля **NC** в лунках B1 и C1 – (**MNC**) и положительного контроля **PC** в лунках D1 и E1 (**MPC**) рассчитывается по формулам:

$$MNC = \frac{ОП_{450}(B1) + ОП_{450}(C1)}{2}$$

$$MPC = \frac{ОП_{450}(D1) + ОП_{450}(E1)}{2}$$

Значение уровня отсечения, cut-off (COV), рассчитывается по формуле:

$$COV = MNC + (0,2 \times MPC)$$

Результаты теста могут считаться достоверными, если выполняются следующие условия:

1. ОП бланка в лунке A1 < 0,150
2. $MNC \leq 0,250$
3. $MPC \geq 0,400$
4. $MPC : MNC \geq 3$

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Если ОП₄₅₀ в лунке с исследуемой сывороткой $\geq \text{COV} + 15\%$, результат считается **положительным**.
- Если ОП₄₅₀ в лунке с исследуемой сывороткой $< \text{COV} - 15\%$, результат считается **отрицательным**.

В силу физиологической и аналитической изменчивости, значения, лежащие в пределах 15% диапазона по обе стороны cut-off, являются **неопределенными** (серая зона). Образцы, показавшие неопределенный результат, рекомендуется проанализировать повторно, параллельно со свежей сывороткой, взятой через 7-14 дней, ставя каждую из сывороток в дубликатах. При интерпретации результатов IgM теста необходимо также учитывать тенденцию изменения уровня специфических антител, в том числе и антител класса IgG (для этого можно использовать тест HUMAN ELISA IgG), равно как анамнез и данные других исследований. Образцы, повторно давшие положительный или неопределенный результат, необходимо исследовать подтверждающим тестом.

Сыворотки пациентов с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), могут показать неопределенный или слабоположительный результат (отношение оптической плотности пробы к cut-off $< 1,75$), что связано с возможной реактивацией ЦМВ IgM-иммунного ответа при индуцированной ВЭБ пролиферации В-клеток.

При отсутствии фотометра возможен визуальный учет результатов, при этом необходимо соблюдение следующих условий:

- Лунка А1 с бланком должна быть бесцветной на глаз.
- Образец считается положительным, если окраска лунки с образцом явно интенсивнее, чем окраска лунок В1/С1 с отрицательным контролем **NC**.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сведения об аналитических характеристиках можно найти в Отчете об испытаниях, опубликованном в Интернете на сайтах:

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-cmvm.pdf> или
<http://www.human.de/data/gb/vr/el-cmvm.pdf>

ПРИМЕЧАНИЕ

Компоненты набора стабильны до окончания указанного срока годности даже после вскрытия их упаковки. Тем не менее, контаминация реагента непосредственно зависит от количества проведенных тестов. В связи с этим, чтобы избежать необоснованных претензий, установлен гарантийный срок 60 дней после первого использования реагента.

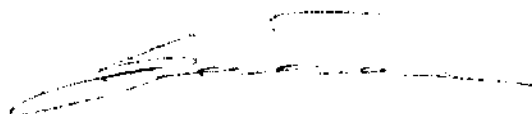
При работе с набором следует обеспечить постоянное соблюдение в лаборатории основных требований GLP (надлежащей лабораторной практики). *Данные требования в т.ч. включают: необходимость плотно закрывать флаконы их собственными крышками немедленно после отбора реагентов; отбирать только необходимое количество реагента, если предполагается его соприкосновение с другими растворами, способными вызвать контаминацию, например образцами пациентов; как можно быстрее возвращать исходные реагенты, если они не используются, в стандартные условия хранения (2-8 °C).* Всегда должно проверяться соблюдение условий достоверности результатов теста.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

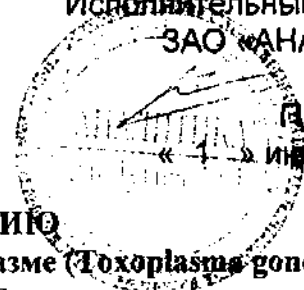
Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

«УТВЕРЖДАЮ»

Исполнительный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»А.Г. Каленик
«1» июня 2009 г.**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ****Набор реагентов для определения антител IgG к токсоплазме (*Toxoplasma gondii* IgG)
производства фирмы HUMAN GmbH (Германия)****Токсоплазма IgG (TOXO IgG)**Иммуноферментный тест для качественного или количественного определения антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* в сыворотке крови человека

Набор рассчитан на 96 определений

IVD

ВВЕДЕНИЕ*Toxoplasma gondii* является широко распространенным внутриклеточным паразитом, инфицирующим млекопитающих и птиц. Заражение человека может происходить через инфицированные фекалии или мясо, а также напрямую при переливании крови или внутриутробно.

При заражении женщин токсоплазмозом в первом триместре беременности риск трансплацентарной передачи, результатом которой являются спонтанные аборт, преждевременные роды или тяжелые патологии плода, составляет 25%. Приблизительно у 65% младенцев, родившихся от женщин, заражение которых токсоплазмозом произошло в третьем триместре, имеют субклиническую инфекцию, и в 85% случаев у них развивается хориоретинит или неврологические нарушения.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* осуществляется классическим методом двухстадийного непрямого иммуноферментного анализа. Антигенный материал (TOXO Ag), полученный из обработанных ультразвуком целых организмов *Toxoplasma gondii*, адсорбирован на лунках микропланшета. На первой стадии инкубации специфические антитела (анти-TOXO-IgG), содержащиеся в контролях и исследуемых образцах, связываются с иммобилизованными антигенами. После промывки, удаляющей не связавшиеся компоненты сывороток, в лунки добавляется конъюгат, представляющий собой антитела к IgG человека, меченые пероксидазой хрена (HRP). В результате инкубации (стадия 2) конъюгат специфически связывается на поверхности лунок с антителами класса IgG, образуя типоспецифические иммунокомплексы. После повторной промывки, удаляющей не связавшийся конъюгат, в лунки вносится субстрат (стадия 3). Ферментативная реакция пероксидазы с субстратом ТМБ приводит к образованию окрашенного продукта, изменяющего свой цвет с синего на желтый после добавления стоп-реагента. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации в образце анти-TOXO-IgG и может быть измерена на планшетном фотометре с длиной волны 450 нм (например, HUMAREADER).

Результаты анализа образцов получают путем сравнения с расчетным значением уровня отсечения (cut-off), либо рассчитывают количественно по калибровочной кривой (в качестве калибраторов используются cut-off контроль и 3 положительных контроля), выражая их в Международных единицах (МЕ/мл).

МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ И ИХ СОСТАВ

MIC	Стрипы 8-луночные (код TOX G, в рамке-держателе) Стрипы, разделяемые на отдельные лунки, с иммобилизованным антигеном <i>Toxoplasma gondii</i> , полученным обработкой ультразвуком; в упаковке с влагопоглотителем	12 шт.
NC	TOXO - IgG отрицательный контроль (зеленая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
CC	TOXO - IgG cut-off контроль (белая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки; 5,0 МЕ/мл	1×2,5 мл
PCL	TOXO - IgG низкий положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки; 30 МЕ/мл	1×2,5 мл
PCM	TOXO - IgG средний положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки; 100 МЕ/мл	1×2,5 мл

PCH	ТОХО - IgG высокий положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки; 200 МЕ/мл <i>Контроли CC, PCL, PCM и PCH откалиброваны по 2-му Международному стандартному препарату (ВОЗ) антител к <i>Toxoplasma gondii</i></i>	1×2,5 мл
DIL-G 5121	Буфер для разведения IgG образцов (белая крышка) Готовый к использованию 0,01 М фосфатный буфер, <u>зеленого цвета</u> ; содержит 8 г/л хлорида натрия и 10 г/л альбумина; pH 6,5±0,2	1×100 мл
CON	Конъюгат анти-IgG (белая крышка) Готовый к использованию раствор кроличьих антител к IgG человека, меченых пероксидазой хрена, <u>красного цвета</u>	1×12 мл
WS 5102	Промывочный раствор (белая крышка) Концентрат (на 1000 мл готового раствора, содержащего 10 ммоль/л трис-солевого буфера и 8 г/л хлорида натрия; pH 7,2±0,2)	1×50 мл
SUB 5103	Субстратный реагент (черная крышка) Готовый к использованию, бесцветный или голубоватый; содержит 1,2 ммоль/л 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и 3 ммоль/л перекиси водорода; pH 3,7±0,2	1×13 мл
STOP 5104	Стоп-реагент (красная крышка) Готовый к использованию, содержит 0,5М серную кислоту	1×15 мл
	Клейкая пленка для стрипов	2 шт.

- Общее содержание консервантов в реагентах составляет < 0,1%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не пипетируйте реагенты ртом, не курите, не принимайте пищи во время исследования. Избегайте контакта с кожей и слизистыми. Обращайтесь со всеми образцами и контролями как с потенциально инфекционными материалами. Проверка (на уровне доноров) контролей, входящих в состав набора, на наличие антител к ВИЧ 1 и 2, вирусу гепатита С, а также HBsAg, дала отрицательный результат. В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP) пользуйтесь защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

После исследования все материалы, контактировавшие с образцами пациентов или контролями, должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при температуре 121 °С, замачиванием в 5% растворе гипохлорита натрия в течение 1 часа или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо иным лабораторным дезинфектантом).

Стоп-реагент **STOP** содержит серную кислоту, способную вызвать ожоги глаз, кожи и слизистых покровов. При контакте с этим реагентом тщательно промойте пораженное место большим количеством проточной воды, после чего обратитесь к врачу.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетках, в условиях хранения при температуре 2-8 °С.

После вскрытия флаконов реагенты пригодны к использованию в течение 60 дней при хранении при температуре 2-8 °С (см. также раздел «ПРИМЕЧАНИЕ»).

Стрипы **MIC** (код TOX G)

- Планшет, состоящий из 12 стрипов в рамке-держателе, запаян под вакуумом в пластиковый металлизированный пакет с влагопоглотителем.
- Перед вскрытием упаковку с планшетом следует прогреть до комнатной температуры.
- Неиспользованные стрипы необходимо вернуть обратно в пакет с влагопоглотителем, плотно закрыть его герметизирующей застежкой и хранить в таком виде при температуре 2-8 °С.

Не касайтесь пальцами дна лунок и их верхней кромки.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием прогрейте все реагенты до **комнатной температуры**. (15-25 °С). Неиспользуемые реагенты следует всегда хранить при температуре 2-8 °С.

Примечание: Реагенты общего назначения **DIL-G 5121**, **WS 5102**, **SUB 5103** и **STOP 5104** взаимозаменяемы между различными партиями (лотами) набора и различными наборами фирмы HUMAN. В ИФА тестах на IgG антитела используйте только IgG буфер для разведения образцов **DIL-G 5121**.

Все остальные реагенты **специфичны к конкретной партии (лоту)** набора и не могут быть заменены реагентами из другой партии. При работе с данным набором не допускается использование каких-либо реагентов других производителей.

Рабочий раствор промывочного буфера WASH

- Для получения рабочего раствора промывочного буфера разведите концентрат **WS 5102** в соотношении 1:20 свежей деионизованной водой (например: 50 мл концентрата **WS 5102** + 1000 мл деионизованной воды = 1050 мл).
- Стабильность: до 60 дней при температуре 15-25 °C.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ**Сыворотки**

Не используйте сыворотки с сильным гемолизом или липемией.

Образцы могут храниться в течение 7 дней при температуре 2-8 °C, более длительное хранение возможно в замороженном виде при температуре -20 °C. Допускается только однократное замораживание. Оттаявшие образцы необходимо гомогенизировать. При наличии в сыворотках взвешенных частиц удалите последние центрифугированием или фильтрацией.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Внимание! Точность полученных результатов зависит от строгого следования приведенной ниже процедуре исследования.

Предварительные замечания

- P1:** Не путайте крышки от флаконов, чтобы избежать контаминации реагентов. Не пользуйтесь просроченными реагентами.
- P2:** Не пользуйтесь реагентами, если они загрязнены, либо имеют запах или вид, отличный от обычного.
- P3:** Аккуратно впишите номера образцов и контролей в листок-формуляр, приложенный к набору.
- P4:** Подсчитайте количество лунок, необходимое для данного исследования. Выньте необходимое количество стрипов **MIC** или отдельных лунок из упаковки и вставьте их в рамку-держатель.
- P5:** Исследование контролей должно проводиться в дубликатах. Вносить образцы и контроли необходимо как можно ближе ко дну лунки.
- P6:** Всегда вносите реагенты в лунки в одном и том же порядке, чтобы свести к минимуму разброс по времени реакции между отдельными лунками. Это важно для воспроизводимости результатов. Общее время пипетирования образцов не должно превышать 5 минут. В противном случае контроли следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины образцов. Если для анализа используется больше одного планшета, контроли следует выполнять на каждом планшете.
- P7:** Любые воздушные пузырьки в лунках должны быть удалены до начала инкубации или измерения оптической плотности.
- P8:** Добавление рабочего раствора субстрата **SUB** инициирует процесс развития синей окраски, которая сменяется на желтую при остановке реакции добавлением стоп-реагента **STOP**. Во время развития окраски инкубируйте планшет в темноте.

Методика промывки

Промывка лунок является исключительно важной стадией. Недостаточная промывка ведет к снижению точности полученных результатов и завышению оптической плотности.

W1: Снимите со стрипов защитную пленку, после чего удалите жидкость из лунок в 5% раствор гипохлорита натрия и внесите в них рабочий раствор промывочного буфера **WASH**. Через 30 секунд удалите жидкость из лунок и повторите промывку еще 3 раза (всего 4 раза).

W2: При использовании автоматического промывочного устройства заправьте его рабочим раствором промывочного буфера **WASH** и промойте лунки 5 раз. Следите за тем, чтобы вошер целиком заполнял лунки жидкостью и полностью удалял ее через каждые 30 секунд (остаток жидкости не должен превышать 15 мкл).

W3: После окончания промывки удалите остатки жидкости из лунок, постукивая перевернутым планшетом о фильтровальную бумагу.

Схема проведения анализа

Перед использованием все реагенты и образцы должны быть прогреты до комнатной температуры.

Подготовка образцов:

Разведите образцы сыворотки пациентов в соотношении 1:100 IgG буфером для разведения образцов **DIL-G 5121**. Например, 10 мкл сыворотки добавьте к 1 мл буфера **DIL-G 5121** и тщательно перемешайте.

Разведенные образцы до проведения анализа могут храниться в течение 48 часов при температуре 2-8 °C.

Контроли готовы к использованию и разведения не требуют.

Стадия 1 Внесите в лунки:	Лунка [объем жидкости в мкл]			
	A1 бланк	B1/C1 Отриц. контроль NC	D1/C2 Полож. контроль PC	D2... Образец

NC в две лунки	--	100	--	--
CC в две лунки, D1/E1	--	--	100	--
PCL в две лунки, F1/G1	--	--	100	--
PCM в две лунки, H1/A2	--	--	100	--
PCH в две лунки, B2/C2	--	--	100	--
Разведенные образцы	--	--	--	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 4 раза, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 2 Внесите в лунки:				
Конъюгат CON	--	100	100	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 5 раз, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 3 Внесите в лунки:				
Субстратный реагент SUB 5103	100	100	100	100
Инкубируйте 15 минут при 17-25 °C в темноте (см. P8).				
Добавьте стоп-реагент STOP 5104	100	100	100	100
Тщательно перемешайте.				
Обнулите планшетный фотометр (например, HUMAREADER) по лунке A1 с бланком.				
После добавления стоп-реагента как можно быстрее (в течение не более чем 30 минут) измерьте оптическую плотность при длине волны 450 нм, используя (по возможности) референтную длину волны 630-690 нм.				

РАСЧЕТ КОНТРОЛЬНЫХ ВЕЛИЧИН И Cut-off

Среднее значение оптической плотности отрицательного контроля NC (MNC), cut-off контроля CC (MCC), низкого положительного контроля PCL, среднего положительного контроля PCM, высокого положительного контроля PCH (MPCL, MPCM, MPCN) рассчитываются по следующей формуле (пример):

$$MCC = \frac{ОП_{450}(D1) + ОП_{450}(E1)}{2}$$

Результаты теста могут считаться достоверными, если выполняются следующие условия:

1. ОП бланка в лунке A1 < 0,150
2. MNC ≤ MCC
3. MPCL ≥ 0,750
4. MPCM: MNC ≥ 5

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Если ОП₄₅₀ в лунке с исследуемой сывороткой ≥ MCC + 15%, результат считается **положительным**.
 - Если ОП₄₅₀ в лунке с исследуемой сывороткой < MCC - 15%, результат считается **отрицательным**.
- В силу физиологической и аналитической изменчивости, значения, лежащие в пределах 15% диапазона по обе стороны расчетного cut-off, являются **неопределенными** (серая зона). Образцы, показавшие неопределенный результат, рекомендуется проанализировать повторно, параллельно со свежей сывороткой, взятой через 7-14 дней, ставя каждую из сывороток в дубликатах. При интерпретации результатов следует учитывать анамнез и данные других исследований пациента. Образцы, повторно давшие положительный или неопределенный результат, необходимо исследовать подтверждающим тестом.

Количественное определение IgG антител к *Toxoplasma gondii* в образцах пациентов

Для количественной оценки содержания IgG антител к *T. gondii* положительные результаты могут быть выражены в Международных единицах (МЕ/мл). В этом случае необходимо построить калибровочный

график, откладывая по оси ординат средние величины оптической плотности ОП₄₅₀ cut-off контроля МСС и средние величины трех положительных контролей МРСL, МРСМ, МРСН а по оси абсцисс – соответствующие им концентрации специфических IgG (5, 30, 100 и 200 МЕ/мл). Проходящая через точки калибровочная кривая позволяет определить концентрацию специфических IgG антител в образце по его ОП₄₅₀.

При количественном определении IgG антител, сыворотки пациентов с ОП₄₅₀ выше, чем у высокого положительного контроля РСН (200 МЕ/мл), следует дополнительно разбавить IgG буфером для разведения образцов и проанализировать повторно.

Следует с осторожностью подходить к интерпретации клинического значения изменений уровня специфических IgG к *Toxoplasma gondii*.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сведения об аналитических характеристиках ИФА теста TOXO IgG фирмы HUMAN можно найти в Отчете об испытаниях, опубликованном в Интернете на сайтах:

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-toxog.pdf>

или

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-toxog.pdf>

ПРИМЕЧАНИЯ

Компоненты набора стабильны до окончания указанного срока годности даже после вскрытия их упаковки. Тем не менее, контаминация реагента непосредственно зависит от количества проведенных тестов. В связи с этим, чтобы избежать необоснованных претензий, установлен гарантийный срок 60 дней после первого использования реагента.

При работе с набором следует обеспечить постоянное соблюдение в лаборатории основных требований GLP (надлежащей лабораторной практики).

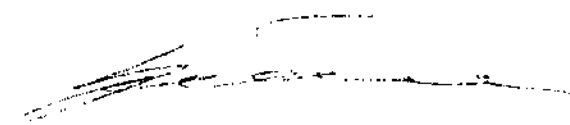
Данные требования в т.ч. включают: необходимость плотно закрывать флаконы их собственными крышками немедленно после отбора реагентов; отбирать только необходимое количество реагента, если предполагается его соприкосновение с другими растворами, способными вызвать контаминацию, например образцами пациентов; как можно быстрее возвращать исходные реагенты, если они не используются, в стандартные условия хранения (2-8 °C). Всегда должно проверяться соблюдение условий достоверности результатов теста.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк

«УТВЕРЖДАЮ»
Исполнительный директор
ЗАО «АНАЛИТИКА»

П.Т. Капеник
«1» июля 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для определения антител IgM к токсоплазме (*Toxoplasma gondii* IgM)
производства фирмы HUMAN GmbH (Германия)

Токсоплазма IgM (TOXO IgM)

Иммуноферментный тест для качественного определения антител класса IgM к *Toxoplasma gondii* в сыворотке крови человека

Набор рассчитан на 96 определений

ВВЕДЕНИЕ

Toxoplasma gondii является широко распространенным внутриклеточным паразитом, инфицирующим млекопитающих и птиц. Заражение человека может происходить через инфицированные фекалии или мясо, а также напрямую при переливании крови или внутриутробно.

При заражении женщин токсоплазмозом в первом триместре беременности риск трансплацентарной передачи, результатом которой являются спонтанные аборт, преждевременные роды или тяжелые патологии плода, составляет 25%. Приблизительно у 65% младенцев, родившихся от женщин, заражение которых токсоплазмозом произошло в третьем триместре, имеют субклиническую инфекцию, и в 85% случаев у них развивается хориоретинит или неврологические нарушения.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение антител класса IgM к *Toxoplasma gondii* (анти-TOXO IgM) осуществляется методом двухстадийного непрямого иммуноферментного анализа. Мембранные антигены *Toxoplasma gondii* адсорбированы на лунках микропланшета. На первой стадии инкубации анти-TOXO антитела, содержащиеся в контролях и исследуемых образцах, связываются с иммобилизованными антигенами. Для устранения влияния ревматоидного фактора и конкуренции с IgG антителами, буфер для разведения образцов содержит антитела к IgG иммуноглобулинам человека.

После промывки, удаляющей несвязавшиеся компоненты сывороток, в лунки добавляется конъюгат, представляющий собой антитела к IgM человека, меченые пероксидазой хрена. В результате инкубации (стадия 2) конъюгат специфически связывается на поверхности лунок с антителами класса IgM, образуя иммунокомплексы.

После повторной промывки, удаляющей несвязавшийся конъюгат, в лунки вносится субстрат (стадия 3). Ферментативная реакция пероксидазы с субстратом ТМБ приводит к образованию окрашенного продукта, который меняет цвет с синего на желтый после добавления стоп-реагента. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации анти-TOXO IgM антител в пробе и может быть измерена на микропланшетном фотометре с длиной волны 450 нм (например, HUMAREADER). Результат интерпретируется, как положительный или отрицательный при сравнении с расчетным значением уровня отсечения (cut-off).

МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Набор содержит реагенты, достаточные для выполнения 96 определений:

MIC	Стрипы 8-луночные (код TOX M, в рамке-держателе) Стрипы, разделяемые на отдельные лунки, с иммобилизованным мембранным антигеном <i>Toxoplasma gondii</i> ; в упаковке с влагопоглотителем	12
NC	TOXO IgM отрицательный контроль (зеленая крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
PC	TOXO IgM положительный контроль (красная крышка) Готовый к использованию, на основе человеческой сыворотки	1×2,5 мл
DIL-M 5111	IgM буфер для разведения образцов (голубая крышка) Готовый к использованию 0,01 М фосфатный буфер, <u>зеленого цвета</u> ; содержит 8 г/л хлорида натрия, 10 г/л альбумина и антитела козы к IgG человека; pH 6,5±0,2	1×100 мл
CON	Конъюгат анти-IgM (белая крышка) Готовый к использованию раствор кроличьих антител к IgM человека, меченых	1×12 мл

пероксидазой хрена, красного цвета

WS 5102	Промывочный раствор (белая крышка) Концентрат (на 1000 мл готового раствора, содержащего 10 ммоль/л трис-солевого буфера и 8 г/л хлорида натрия; pH 7,2±0,2)	1×50 мл
SUB 5103	Субстратный реагент (черная крышка) Готовый к использованию, бесцветный или светло-голубой, содержит 1,2 ммоль/л 3,3',5,5' тетраметилбензидина (ТМБ) и 3 ммоль/л перекиси водорода; pH 3,7±0,2	1×13 мл
STOP 5104	Стоп-реагент (красная крышка) Готовый к использованию, содержит 0,5М серную кислоту	1×15 мл
	Пленка для заклейки стрипов	2

- Общее содержание консервантов в реагентах составляет < 0,1%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не пипетируйте реагенты ртом, не курите, не принимайте пищи во время исследования.
2. Избегайте контакта реагентов и проб с кожей и слизистыми.
3. Пользуйтесь специальной одеждой и одноразовыми перчатками.
4. Контроли, входящие в состав набора, проверены на отсутствие антител к ВИЧ 1 и 2, вирусу гепатита С, а также HBs-антигена, тем не менее обращаться с контролями и пробами пациентов надлежит как с потенциально инфицированными материалами.
5. После исследования все материалы, контактировавшие с исследуемыми пробами или калибраторами, должны быть подвергнуты дезактивации автоклавированием в течение 1 часа при температуре 121 °С, или замачиванием в 5% растворе гипохлорита натрия в течение 1 часа.
6. Стоп-реагент **STOP** содержит серную кислоту, способную вызвать ожоги глаз и кожи. При попадании этого реагента на кожный покров и слизистые тщательно промойте пораженное место большим количеством проточной воды, после чего обратитесь к врачу.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетках, в условиях хранения при температуре 2-8 °С.

После вскрытия флаконов реагенты пригодны к использованию в течение 60 дней при хранении при температуре 2-8 °С.

Стрипы **MIC** (код TOX M)

Микропланшет, состоящий из 12 стрипов в рамке-держателе, запаян под вакуумом в пластиковый металлизированный пакет с влагопоглотителем. Перед вскрытием вакуумной упаковки микропланшет следует прогреть до комнатной температуры. Неиспользованные стрипы необходимо положить обратно в пакет с влагопоглотителем, плотно закрыть его герметизирующей застежкой и хранить в таком виде при температуре 2-8 °С. Убедитесь, что в пакете со стрипами остался влагопоглотитель.

Не касайтесь пальцами дна лунок и их верхней кромки.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Примечание: Реагенты общего назначения **DIL-M 5111**, **WS 5102**, **SUB 5103** и **STOP 5104** взаимозаменяемы между различными партиями (лотами) набора и различными наборами фирмы HUMAN. В ИФА тестах на IgM антитела используйте только IgM-буфер для разведения образцов **DIL-M 5111**.

Все остальные реагенты специфичны к конкретной партии (лоту) набора и не могут быть заменены реагентами из другой партии. При работе с данным набором не допускается использование каких-либо реагентов других производителей.

Промывочный буфер **WASH**

Для получения рабочего раствора промывочного буфера разведите концентрат **WS 5102** в соотношении 1+20 дистиллированной или деионизированной водой (например: 50 мл концентрата **WS 5102** + 1000 мл дистиллированной воды).

Разведенный буфер стабилен в течение 60 дней при температуре 15-25 °С.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сыворотки

Не используйте сыворотки с сильным гемолизом или липемией.

Нативные сыворотки могут храниться в течение 7 дней при температуре 2-8 °С, более длительное хранение возможно в замороженном виде при температуре -20 °С. Допускается только однократное замораживание. Оттаявшие образцы необходимо гомогенизировать. При наличии в сыворотках взвешенных частиц удалите последние центрифугированием или фильтрацией.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Внимание! Точность полученных результатов зависит от строгого следования приведенной ниже процедуре исследования.

Предварительные замечания

P1: Не путайте крышки от флаконов. Не пользуйтесь просроченными реагентами.

P2: Не пользуйтесь реагентами, если они загрязнены, либо имеют запах или вид, отличный от обычного.

P3: Аккуратно впишите номера контролей и проб в листок-формуляр, приложенный к оригиналу инструкции.

P4: Подсчитайте количество лунок, необходимое для данного исследования. Выньте необходимое количество стрипов **MIC** или отдельных лунок из упаковки и вставьте их в рамку-держатель.

P5: Исследование контролей должно проводиться в дубликатах. Вносить пробы и контроли необходимо как можно ближе ко дну лунок.

P6: Всегда вносите реагенты в лунки в одном и том же порядке, чтобы свести к минимуму разброс по времени реакции между отдельными лунками. Это важно для воспроизводимости результатов. Общее время пипетирования не должно превышать 5 минут. В противном случае, контроли следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины проб. Если для анализа используется больше одного микропланшета, контроли следует ставить с каждым из них.

P7: Любые воздушные пузырьки в лунках должны быть удалены до начала инкубации или измерения оптической плотности.

P8: Добавление рабочего раствора субстрата **SUB** инициирует процесс развития окраски, который прерывается при добавлении стоп-реагента **STOP**. Проводите инкубацию с субстратом в темноте.

P9: Помутнение буфера для разведения образцов **DIL-M** после добавления в него сыворотки не влияет на результаты исследования.

Методика промывки

Промывка лунок является исключительно важной стадией. Недостаточная промывка ведет к снижению точности полученных результатов и завышению оптической плотности.

W1: Снимите со стрипов защитную пленку, после чего удалите жидкость из лунок и внесите в них промывочный буфер **WASH**. Через 30 секунд удалите жидкость из лунок и повторите промывку трижды (всего 4 раза).

W2: При использовании автоматического промывочного устройства заправьте его промывочным буфером **WASH** и промойте лунки 5 раз (см. *Последовательность операций*). Следите за тем, чтобы вошер целиком заполнял ячейки жидкостью и полностью удалял ее через каждые 30 секунд (остаток жидкости должен быть менее 15 мкл).

W3: После окончания промывки удалите остатки жидкости из лунок, постукивая перевернутым микропланшетом (стрипом) о фильтровальную бумагу.

Схема проведения анализа

Перед использованием все реагенты и образцы должны быть прогреты до комнатной температуры.

Подготовка образцов:

Разведите сыворотки пациентов в соотношении 1:100 IgM-буфером для разведения образцов **DIL-M 5111**. Например, 10 мкл сыворотки добавьте к 1 мл буфера **DIL-G 5111** и тщательно перемешайте (см. P9).

Инкубируйте разведенные образцы не менее 5 минут, прежде чем вносить их в лунки.

Разведенные образцы до проведения анализа могут храниться в течение 24 часов при температуре 2-8 °C.

Контроли готовы к использованию и разведения не требуют.

Стадия 1 Внесите в лунки:	Лунка [объем жидкости в мкл]			
	A1 бланк	B1/C1 Отриц. контроль NC	D1/E1 Полож. контроль PC	F1... Образец
NC в две лунки	--	100	--	--
PC в две лунки, D1/E1	--	--	100	--
Разведенные образцы	--	--	--	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 4 раза, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 2 Внесите в лунки:				

Конъюгат анти-IgM CON	--	100	100	100
Закройте стрипы MIC клейкой пленкой				
Инкубируйте 30 минут при 17-25 °C.				
Промойте лунки 5 раз, как описано (см. W1 – W3).				
Рабочий раствор промывочного буфера WASH	350	350	350	350
Стадия 3				
Внесите в лунки:				
Субстратный реагент SUB 5103	100	100	100	100
Инкубируйте 15 минут при 17-25 °C в темноте (см. P8).				
Добавьте стоп-реагент STOP 5104	100	100	100	100
Тщательно перемешайте.				
Обнулите планшетный фотометр (например, HUMAREADER) по лунке A1 с бланком.				
После добавления стоп-реагента как можно быстрее (в течение не более чем 30 минут) измерьте оптическую плотность при длине волны 450 нм, используя (по возможности) референтную длину волны 630-690 нм.				

РАСЧЕТ КОНТРОЛЬНЫХ ВЕЛИЧИН И Cut-off

Расчет контрольных показателей и cut-off

Среднее значение оптической плотности отрицательного контроля **NC** в лунках B1 и C1 – (**MNC**) и положительного контроля **PC** в лунках D1 и E1 (**MPC**) рассчитывается по формулам:

$$MNC = \frac{ОП_{450}(B1) + ОП_{450}(C1)}{2} \quad MPC = \frac{ОП_{450}(D1) + ОП_{450}(E1)}{2}$$

Уровень отсечения (cut-off) рассчитывается по формуле:

$$Cut-off = MNC + 0,2 \times MPC$$

Результаты теста могут считаться достоверными, если выполняются следующие условия:

1. ОП бланка в лунке A1 < 0,150
2. MNC ≤ 0,250
3. MPC ≥ 0,400
4. MPC : MNC ≥ 3

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Если оптическая плотность в лунке с исследуемой сывороткой больше или равна значению cut-off +20%, результат считается **положительным по анти-TOXO IgM**.
- Если оптическая плотность в лунке с исследуемой сывороткой меньше значения cut-off –20%, результат считается **отрицательным по анти-TOXO IgM**.

В силу физиологической и аналитической изменчивости, значения, лежащие в пределах 20% диапазона по обе стороны cut-off, являются **неопределенными** (серая зона). Образцы, показавшие неопределенный результат, рекомендуется проанализировать повторно, параллельно со свежей сывороткой, взятой через 7-14 дней, ставя каждую из сывороток в дубликатах. При интерпретации результатов IgM теста необходимо также учитывать тенденцию изменения уровня специфических антител (в т.ч. IgG антител), равно как анамнез и данные других исследований. Положительные пробы, а также пробы, повторно давшие неопределенный результат, необходимо исследовать подтверждающим тестом.

Сыворотки пациентов с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), могут дать неопределенный или слабоположительный результат, что, вероятно, связано с реактивацией IgM-иммунного ответа к *Toxoplasma gondii*. Таким образом, прежде чем интерпретировать результаты теста, следует исключить возможное наличие ВЭБ инфекции.

Визуальный учет результатов

При отсутствии фотометра возможен визуальный учет результатов, при этом необходимо соблюдение следующих условий:

- Лунка с бланком должна быть бесцветной на глаз.
- Проба считается положительной, если ее окраска явно интенсивнее, чем окраска в лунке с отрицательным контролем.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сведения об аналитических характеристиках ИФА теста TOXO IgM фирмы HUMAN можно найти в Отчете об испытаниях, опубликованном в Интернете на сайтах:

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-toxom.pdf> или

<http://www.human.de/data/gb/vr/el-toxom.pdf>

Примечание

Компоненты набора стабильны до окончания указанного срока годности даже после вскрытия их упаковки. Тем не менее, контаминация реагента зависит от количества отборов реагентов. 60-дневный срок использования реагентов установлен из соображения надежности получения результатов.

При работе с набором следует обеспечить постоянное соблюдение в лаборатории основных требований GLP (надлежащей лабораторной практики).

Данные требования в т.ч. включают: необходимость плотно закрывать флаконы их собственными крышками немедленно после отбора реагентов; отбирать только необходимое количество реагента, если предполагается его соприкосновение с другими растворами, способными вызвать контаминацию, например образцами пациентов; как можно быстрее возвращать исходные реагенты, если они не используются, в стандартные условия хранения (2-8 °C).

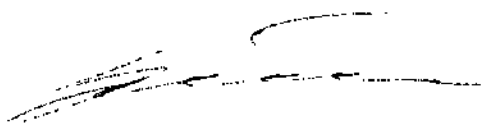
Всегда должно проверяться соблюдение условий достоверности результатов теста.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала инструкции.

Начальник отдела продукции



К.И. Бланк