

объединение «Д

2012 г.

Разработана впервые

Содержание

Введение	3
Назначение.....	3
Состав набора «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-ЭКСПРЕСС».....	3
Аналитические и диагностические характеристики набора.....	4
Меры предосторожности.....	4
Инструкции по безопасности.....	5
Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов.....	6
Отбор и подготовка образцов	6
Подготовка реагентов	6
Проведение анализа	7
Учет результатов	8
Интерпретация результатов	8
Срок годности. Условия хранения и транспортирования	8
Объяснение символов	9

145

ор реагентов выпускается в одном комплекте.
ор рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая
трольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного использования
ора до одной лунки.

ВВЕДЕНИЕ

Toxoplasma gondii является внутриклеточным простейшим паразитом животных и человека. Основные хозяева – представители семейства кошачьих. Заражение человека происходит при адании в ЖКТ ооцисты токсоплазмы из кала первичного хозяина или при употреблении в у сырого мяса зараженных животных. Токсоплазмоз в острой стадии может быть имптомным, но часто вызывает мягкие клинические симптомы, как правило, фаденопатию, недомогание, субфебрильную температуру. Тяжелые случаи хронического оплазмоза могут привести к хориоретиниту, а у пациентов с ослабленным иммунитетом - к ой диссеминированной инфекции. Возможно инфицирование токсоплазмой плода во время менности. Врожденная инфекция может привести к самопроизвольному аборту, творождению или рождению живого ребенка с клинической картиной заболевания. еделение антител к *Toxoplasma gondii* имеет важное значение в постановке диагноза. ное значение в серологической диагностики имеет тест с красителями Сэбина-Фельдмана, в ром используются жизнеспособные организмы. Альтернативным методом диагностики оплазмоза является иммуноферментный анализ (ИФА) сыворотки крови.

НАЗНАЧЕНИЕ

Абор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-ЭКСПРЕСС» предназначен выявления антител са IgG к *Toxoplasma gondii* в сыворотке (плазме) крови человека методом уноферментного анализа в экспресс формате.

СОСТАВ НАБОРА «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-ЭКСПРЕСС»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
муносорбент - планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок цый, разборность до 1 лунки), в лунках которого сорбирована смесь мбинантных антигенов <i>Toxoplasma gondii</i>	1 планшет
ьюгат, жидкий – поликлональные антитела козы к IgG человека, меченные оксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтоватого а или бесцветная жидкость.	1 флакон 12,0 мл
ндартные калибровочные пробы, содержащие известные концентрации тел к <i>Toxoplasma gondii</i> ; прозрачные или опалесцирующие жидкости. ибратор 0 (0 ME) – светло-желтого цвета; ибратор 1 (14,5 ME) – светло-розового цвета; ибратор 2 (75 ME) – розового цвета; ибратор 3 (150 ME) – розового цвета; ибратор 4 (500 ME) – ярко-розового цвета; ибратор 5 (1000 ME) – насыщенного ярко-розового цвета.	6 флаконов по 1,5 мл
блок-раствор) - слегка опалесцирующая синего цвета жидкость.	1 флакон 100,0 мл
(концентрат x 25) – промывочный раствор. Прозрачная или слегка есцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 50,0 мл
5-Субстратный раствор, готовый к применению, жидкий. зрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 14,0 мл
п-реагент - раствор серной кислоты 0,2 моль/л. зрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл

Набор комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами. Реагенты помещают в коробку картонную или пакет полиэтиленовый, куда вкладывают планшет для предварительного разведения сывороток, инструкцию по применению.

дополнительно набор может быть комплектovan	Крышка к полистироловым 96-луночным планшетами или защитная пленка для ИФА планшетов	1 шт. 2 шт.
	Одноразовые наконечники	16 шт.
	Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт.
	Полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или пластиковая скрепка	1 шт.

2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Чувствительность и специфичность

Оценка чувствительности и специфичности теста проводилась по панели ToRCH MIXED TESTER PANEL (K-ZMC004), производства «ZeptoMetrix corp», США. Чувствительность теста составила 100%. Специфичность теста составила 100%.

Точность

Внутрисерийная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3-х ложительных образцов в 24 повторах на наборах реагентов одной и той же серии. Коэффициент вариации составил 3,5%.

Межсерийная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3-х ложительных образцов в 24 повторах на наборах реагентов разных серий. Коэффициент вариации составил 5,1%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.
- Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при изготовлении растворов, кроме следующих реагентов входящих в состав тест-систем, предназначенных для выявления антител к ToRCH-инфекциям производства ООО «НПО «Диагностические системы»:
- неспецифические компоненты (ПР (концентрат x 25), стоп-реагент);
- блок-раствор для рабочего разведения исследуемых сывороток идентичен для тест-систем «ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1-G-ЭКСПРЕСС», «ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-2-G-ЭКСПРЕСС», «ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1,2-G-ЭКСПРЕСС», «ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G-ЭКСПРЕСС», «ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-ЭКСПРЕСС» и «ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-G-ЭКСПРЕСС».
- за более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в нашу службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7655, 47) или по E-mail: info@npods.nnov.ru.
- Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение мин.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить тест в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) и пыли, которые могут повлиять на ферментативную активность конъюгатов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многократные ванночки для автоматических анализаторов необходимо сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной. Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной.
- Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).

- Ферментативная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстратов.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца.
- Промывка лунок - важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполнены, не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.
- Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Необходимо использовать воду дистиллированную.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию тепла или света во время инкубации и анализа.

I. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для диагностики "in vitro".
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении отрицательного контрольного образца, положительного контрольного образца, были протестированы и признаны нереактивными в отношении поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антигена р24 ВИЧ-1 и антител к гепатиту С и ВИЧ-1,2.
- При работе с исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с набором реагентов с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, реагентами, промывочными растворами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы. При распыливании немедленно дезактивировать поверхность 3 % раствором хлорамина Б.
- Необходимо избегать контакта ТМБ-Субстратного раствора, стоп-реагента с кожей и слизистыми.
- После проведения ферментативной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавируют растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы сброса в сточную трубу. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к пипеткам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо стерилизовать 2 раза 70 % этиловым спиртом.



-  Некоторые реагенты содержат Проклин 300. Проклин 300 0,1 % - раздражающее вещество. Может вызвать сенсибилизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промойте область контакта большим количеством мыла и воды.

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

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длинах волн 450 нм, 620-680 нм.
- Пипетки переменного объема (одно- и многоканальные).
- Наконечники одноразовые для пипеток переменного объема.
- Устройство для промывания планшетов (вошер).
- Градуированные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.
- Вода дистиллированная.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Перчатки медицинские.

Е. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови должен проводиться в соответствии с текущей практикой. В качестве исследуемых образцов могут быть использованы сыворотка (плазма) крови человека. Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинаktivированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Образцы можно хранить в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Нельзя использовать сыворотку (плазму), замороженную и размороженную более 1 раза. Исследование образцов с выраженным бактериальным ростом, гемолизом и гиперлипидемией не допускается, т.к. может дать неправильный результат. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

Ж. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты готовые к применению

- **Иммуносорбент.** Каждый планшет, состоящий из 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть пакет и вынуть планшет. Взять необходимое количество лунк. Неиспользованные лунки без рамки поместить обратно в пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и закрепить, надев на верхнюю скрепку для фольгированного пакета или поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение срока годности при температуре от 2 до 8 °C.
- **Конъюгат.**
- **Калибраторы** – стандартные калибровочные пробы, жидкие.
- **БР - блок-раствор** для разведения сывороток. Перед использованием реагент тщательно перемешать.
- **ТМБ-субстратный раствор.** Перед использованием реагент тщательно перемешать.
- **Стоп-реагент.**

Реагенты, требующие предварительного приготовления

Рабочий промывочный раствор (ПР). Содержимое флакона с концентратом (х 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата (х 25) промывочного раствора развести соответствующим объемом воды дистиллированной (см. табл. 2). Полученный раствор тщательно перемешать. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут. при температуре от 18 до 24 °C и 28 сут. при температуре от 2 до 8 °C.

Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия пакета с иммуносорбентом и флаконов с БР, ПР (концентрат х 25), стоп-реагентом, оставшиеся не использованными реагенты хранить в течение срока годности тест-системы. Конъюгат, Калибраторы, ТМБ - Субстратный раствор хранить во флаконах, закрытых крышками, в течение 3 мес. при температуре от 2 до 8 °C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Примечание: Перед использованием все реагенты набора выдержать в течение 30 мин и температуре от 18 до 24 °С.

Необходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых стрипов или аншета представлены в таблице 2:

Таблица 2

исход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов при ручной постановке ИФА

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)	
	ПР (конц x 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)
1	4	96
2	8	192
3	12	288
4	16	384
5	20	480
6	24	576
7	28	672
8	32	768
9	36	864
10	40	960
11	44	1056
12	50	1200

Проведение ИФА

1. Вскрыть фольгированный пакет с иммуносорбентом, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество лунок. Пакет с неиспользованными лунками силикагелем тщательно герметизировать. Для этого поместить вскрытый пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock или край пакета с иммуносорбентом свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета.

2. Исследуемые сыворотки развести в 10 раз блок-раствором (БР). Для этого в лунки иммунопланшета внести 90 мкл БР и 10 мкл исследуемой сыворотки. Содержимое лунки тщательно перемешать осторожным пипетированием.

3. Калибровочные пробы готовы к применению – не разводить!

При внесении образцов рекомендуется следующая схема:

2 лунки K0, 2 лунки K1, 2 лунки K2, 2 лунки K3, 2 лунки K4, 2 лунки K5.

Например: в лунки A-1, A-2 пипеткой переменного объема внести по 100 мкл K0, в лунки B1, – по 100 мкл K1, в лунки C1, C-2 – по 100 мкл K2, в лунки D1, D-2 – по 100 мкл K3, в лунки E-2 – по 100 мкл K4, в лунки F1, F-2 – по 100 мкл K5.

3 остальные лунки внести дозатором по 90 мкл БР и 10 мкл предварительно разведенных образцов исследуемых сывороток (конечное разведение исследуемых сывороток 1:100).

Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 5 мин.!

Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать в течение 15 мин при комнатной температуре (18-24 °С).

4. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью вошера или многоканальной пипетки) и планшет промыть 5 раз рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 350 мкл в лунку), и для промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала.

5. Во все лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата и покрытый крышкой или защитной пленкой планшет выдержать 15 мин при комнатной температуре (18-24 °С), после чего планшет промыть 5 раз, как указано в п. 4.

6. Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ – Субстратного раствора и выдержать 5 мин при комнатной температуре (18-24 °С) в защищенном от света месте.

7. Реакцию остановить добавлением во все лунки по 100 мкл стоп-реагента и провести учет результатов.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов провести спектрофотометрически при двух длинах волн 450 нм и при ференс-длине волны в диапазоне от 620 до 680 нм с настройкой прибора по «воздуху». пустим учёт результатов при одной длине волны - 450 нм.

Реакцию учитывать, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунке с K0 - не пее 0,15, а значение в лунке с K1000 выше, чем 1,000.

Необходимо построить калибровочный график по средним величинам ОП «Калибратора 0»; алибратора 14,5»; «Калибратора 75»; «Калибратора 150»; «Калибратора 500»; «Калибратора 00». Для этого по оси абсцисс X откладывают соответствующие значения концентрации тител к токсоплазме, выраженной в МЕ/мл, по оси ординат Y откладывают средние значения I стандартных калибровочных проб. По полученным точкам строят калибровочную кривую.

При учете результатов с помощью встроенного или внешнего программного обеспечения ектрофотометра рекомендуется использовать следующие методы математической обработки зультатов: 4 parameters, 4 PL-Cook-Wilkenson, Point-to-point

II. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

МЕ	Интерпретация
<13.05	Отрицательный
13.05-15.95	Неопределённый
>15.95	Положительный

1. Отрицательный результат указывает на отсутствие иммунитета к вирусу *Toxoplasma ndii*. Однако это не исключает возможности недавно перенесённой инфекции, так как зможно забор крови происходил ещё до появления антител. При подозрении на недавнюю фекцию рекомендуется:

- определение антител класса IgM к *Toxoplasma gondii*;
- повторное определение титра антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* через 7-14 дней для ределения серовконверсии.

2. Положительный результат показывает иммунитет к вирусу. Высоко положительный зультат может показывать либо острую, либо недавнюю инфекцию

3. Образцы с неопределенным результатом должны быть протестированы повторно. Если ни снова показывают неопределенный результат, они должны быть протестированы ьтернативным серологическим методом.

ВНИМАНИЕ: Серологические анализы указывают лишь на прошедший контакт с *toxoplasma gondii* и не могут быть единственным основанием для постановки диагноза.

III. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности указан на упаковке набора. Набор с истекшим сроком годности спользованию не подлежит.

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

Транспортирование - при температуре от 2 до 8°С. Допустимо транспортирование и ранение при температуре до 25 °С 10 суток и до 30 °С 5 суток. Замораживание не допускается.

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

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной екламации необходимо предоставление:

1. рекламируемого набора,
2. всех образцов кроводач пациента,
3. протоколов исследований с использованием других методов с указанием серии, сроков годности и фамилией оператора,
4. протоколов исследований с использованием референтных тестов с указанием серии, сроков годности и фамилии оператора.

ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
	Номер партии (серии)
	Каталожный номер
	Количество определений
	Температурные пределы хранения
	Срок годности число/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

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



В.К. Пименов

Зав. лабораторией



Т.А. Зубова

Главный врач
ГБУЗ НО «Детская городская
клиническая больница № 27
«Айболит»




Л.Г. Лазарева

Handwritten signature in blue ink

Handwritten text in blue ink:
Исх. № 10/0076
Исх. № 10/0076
Исх. № 10/0076

