

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»



В.В. Осипова

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

Набор реагентов для иммуноферментного качественного и количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к *Toxoplasma gondii* «Toxoplasma IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-156-41390295-2022

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

1.1. Назначение набора

Набор реагентов для иммуноферментного качественного и количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к *Toxoplasma gondii* «Toxoplasma IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-156-41390295-2022 предназначен для качественного и количественного определения антител класса G (IgG) к *Toxoplasma gondii* в сыворотке и плазме крови (с гепарином, ЭДТА и цитратом натрия) человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов «Toxoplasma IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» рекомендуется применять для диагностики *in vitro* в следующих случаях:

- как вспомогательное средство диагностики токсоплазмоза;
- для обследований на наличие IgG антител к *Toxoplasma gondii*;
- для оценки интенсивности гуморального иммунного ответа на текущую или перенесенную инфекцию, вызванную *Toxoplasma gondii*.

Только для диагностики *in vitro*.

Популяционные и демографические характеристики.

Выявление токсоплазмоза целесообразно проводить у следующих групп населения:

- у пациентов, контактирующих с бесхозными и домашними кошками;
- при прегравидарном обследовании женщин;
- у беременных женщин.

1.2. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

1.3. Набор реагентов «Toxoplasma IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1. Состав набора реагентов представлен в таблице 1.

Таблица 1. Состав набора реагентов «*Toxoplasma IgG*-кач/кол-ИМБИАН-ИФА»

Название компонента	Описание компонента	Количество (объем, мл)
Иммуносорбент	96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированным рекомбинантным антигеном, иммунологически идентичным антигену <i>Toxoplasma gondii</i> . Готов к применению.	1 шт.
КО₀[*]	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий IgG антител к <i>Toxoplasma gondii</i> . Прозрачная бесцветная жидкость. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (2,0 мл)
КО₁₀[*]	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 10 МЕ/мл IgG антител к <i>Toxoplasma gondii</i> . Прозрачная жидкость бледно-желтого цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (2,0 мл)
КО₂₀₀[*]	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 200 МЕ/мл IgG антител к <i>Toxoplasma gondii</i> . Прозрачная жидкость желтого цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (2,0 мл)
КО₁₀₀₀[*]	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 1000 МЕ/мл IgG антител к <i>Toxoplasma gondii</i> . Прозрачная жидкость ярко-желтого цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (2,0 мл)
К(+)	Инактивированный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий IgG антитела к <i>Toxoplasma gondii</i> в пределах, указанных в паспорте и на этикетке флакона. Прозрачная жидкость красного цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (2,0 мл)
ФСБ-Т(x26)	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Содержит натрий бензоат (0,2%). Требуется разведения.	1 флакон (30,0 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость синего цвета.	1 флакона (20,0 мл)

Название компонента	Описание компонента	Количество (объем, мл)
	<i>Содержит проклин-300 (0,1%).</i> Готов к применению.	
РК	Раствор конъюгата. Раствор мышинных моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость зеленого цвета. <i>Содержит фенол (0,1%).</i> Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)
ТМБ	Раствор тетраметилбензидина. Прозрачная бесцветная жидкость. <i>Содержит натрий бензоат (0,2%).</i> Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. <i>Содержит кислоту серную (1,0 моль/литр).</i> Готов к применению.	1 флакон (7,0 мл)
Пленка для заклеивания планшета		3 шт.
Ванночки для реагентов		3 шт.
Наконечники для пипеток		24 шт.
Трафарет для построения калибровочного графика		1 шт.
Инструкция по применению набора реагентов		1 шт.

* калибровочные образцы аттестованы относительно стандарта WHO International Standard 4th IS for Antibodies, Human, to *Toxoplasma gondii* NIBSC code: 13/132.

В комплект каждой поставки должен входить паспорт качества в одном экземпляре независимо от количества наборов реагентов в поставке.

2.2. Диапазон измерений:

10 – 1000 МЕ/мл.

2.3. Число анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на 96 определений, включая калибровочные и контрольный образцы, с использованием анализатора автоматического иммуноферментного открытого типа или с помощью ручной постановки анализа.

Возможны отдельные независимые постановки анализа с необходимым количеством стрипов **Иммуносорбента**.

Растворы реагентов **ФСБ-Т(х26)**, **РРО** и **Стоп-реагент** являются унифицированными неспецифическими компонентами наборами реагентов и могут применяться для исследования в любых сериях наборов реагентов.

2.4. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов – непрямой двухстадийный иммуноферментный анализ.

На поверхности лунок полистиролового планшета сорбирован рекомбинантный антиген, иммунологически идентичный *Toxoplasma gondii*. В лунки вносятся контрольный образец, калибровочные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgG антител к *Toxoplasma gondii* образуется комплекс (антиген-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с раствором конъюгата (вторичные антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена). При добавлении раствора тетраметилбензидина в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением стоп-реагента.

3. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1. Аналитические характеристики

3.1.1. Предел обнаружения

Минимально определяемая концентрация IgG к *Toxoplasma gondii* – 0,5 МЕ/мл.

3.1.2. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний при исследовании повторяемости на трех положительных образцах сыворотки крови человека в тридцати повторях на трех сериях набора реагентов «*Toxoplasma* IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения оптической плотности не превысили 8%.

3.1.3. Тест на «открытие»

Значение «открытия» для образцов с известной концентрацией IgG к *Toxoplasma gondii* в десяти повторях находилось в пределах 90-110%.

3.1.4. Интерсепт

Значения 20%, 50% и 80% интерсепта не выходили за пределы заданных интервалов при учете результатов анализа при длине волны:

	$\lambda = 405 \text{ нм}$	$\lambda = 450 \text{ нм}$
20%	54-66	29-35
50%	149-181	86-104
80%	518-632	143-173

3.1.5. Линейность

Линейность для образцов с известной концентрацией IgG к *Toxoplasma gondii* находилась в пределах 90-110%

– при учете результатов анализа при длине волны 405 нм – в диапазоне концентраций IgG к *Toxoplasma gondii* 10-1000 МЕ/мл;

– при учете результатов анализа при длине волны 450 нм – в диапазоне концентраций IgG к *Toxoplasma gondii* 10-200 МЕ/мл.

3.1.6. Точность

Близость результата измерения к истинному значению аналита для образцов с известной концентрацией IgG к *Toxoplasma gondii* находилась в пределах 90-110%.

3.1.7. Правильность

Среднее значения восьми повторов К(+), полученных в параллельных измерениях, находилось в пределах, указанных в паспорте и на этикетке флакона.

3.2. Диагностические характеристики

3.2.1. Перекрестная реактивность

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 270 заведомо отрицательных сыворотках крови человека, не содержащих антитела к *Toxoplasma gondii* и содержащих антитела к ВИЧ-1,2, цитомегаловирусу, вирусу герпеса 6 типа, вирусу герпеса 8 типа, вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, вирусам гепатита В и С, *Varicella zoster*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*. Перекрестную реактивность проверяли также в пробах от беременных женщин и в пробах, содержащих ревматоидный фактор.

Результаты ИФА показали, что ложноположительные результаты при применении набора реагентов отсутствуют.

3.2.2. Интерферирующие вещества

В рамках клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа набора «*Toxoplasma* IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» проводили на шести образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих IgG к *Toxoplasma gondii*.

По результатам внутренних испытаний на результат анализа не оказывали влияние гемоглобин (от 100 до 300 г/л), холестерин (от 1,5 до 4 г/л), общий белок (от 60 до 150 г/л), глюкоза (от 800 до 2000 мг/л), триглицериды (от 1,5 до 10 г/л), этанол (от 100 до 2000 мг/л), мочевины (от 90 до 800 мг/л), молочная кислота (от 63 до 400 мг/л) и общий билирубин (от 10 до 300 мг/л) в клинических образцах.

3.2.3. Эквивалентность

В рамках клинических испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «*Toxoplasma* IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке анализа на 100 образцах сыворотки и плазмы крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента и содержащих и не содержащих IgG антитела к *Toxoplasma gondii*.

В результате внутренних испытаний была подтверждена эквивалентность сыворотки к плазме крови человека (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА).

3.2.4. Стабильность

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для установления срока годности и условий хранения набора «*Toxoplasma* IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА».

По результатам испытаний «*Toxoplasma* IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА»: сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8°C в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 мес. после окончания срока годности; сохраняет стабильность после транспортировки при температуре от 9 до 28°C в течении 10 суток и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности (24 месяца) и в течение 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и дальнейшем хранении их при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности (24 месяца) и в течение 1 месяца после окончания срока годности.

Воздействие температуры не выше 28°C в течение 10 суток не влияет на характеристики набора реагентов. Допускается транспортирование при температуре не выше 28°C в течение 10 суток.

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранится в течение 15 суток и ещё одних суток при температуре от 18 до 28°C или 45 суток и ещё одних суток при температуре от 2 до 8°C.

3.2.5. Воспроизводимость

Для определения воспроизводимости анализа была проведена оценка результатов повторяемости анализа в трех лабораториях: проведение предварительных испытаний в лаборатории экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний ФИЦ ФТМ, проведение технических испытаний в ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» и проведение клинических испытаний в ЕИЗИ ФИЦ ФТМ.

Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов при определении антител к *Toxoplasma gondii* не превышает 8,0%.

3.2.6. Диагностическая чувствительность для качественного определения составила 100%, ДИ: 95,13-100%, ДВ 95%.

3.2.7. Диагностическая специфичность для качественного определения составила 100%, ДИ: 95,43-100%, ДВ 95%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года – **класс 2Б**.

4.2. Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней". При работе с набором реагентов требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинично-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.3. Так как контрольный образец, калибровочные и анализируемые образцы набора реагентов являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, маску, перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток.

4.4. Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.

4.5. Сыворотка крови человека, использованная для приготовления калибровочных образцов KO_0 , KO_{10} , KO_{200} , KO_{1000} и контроля $K(+)$, инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ C$ в течение 3 ч, содержит антитела IgG к *Toxoplasma gondii* человека и не содержит антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

4.6. Сыворотка крови человека, использованная для приготовления контрольного образца KO_0 , инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ C$ в течение 3 ч, не содержит антитела IgG к *Toxoplasma gondii*, антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

4.7. В состав компонентов KO_0 , KO_{10} , KO_{200} , KO_{1000} , $K(+)$, ФСБ-Т(x26), РРО, РК, ТМБ входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. KO_0 , KO_{10} , KO_{200} , KO_{1000} , $K(+)$ и РРО содержит 0,1% проклина-300; РК, – 0,1% фенола; ФСБ-Т(x26), ТМБ – 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

4.8. **Стоп-реагент** обладает раздражающим действием, за счет кислоты серной (0,1 моль/л) входящей в состав. При работе избегать попадания **Стоп-реагента** на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики *in vitro*. Все реактивы в используемых концентрациях, входящие в состав компонентов набора реагентов, являются нетоксичными.

4.9. Все промывные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.

4.10. Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер, обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям,

эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.11. Лабораторную посуду многоразового использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество ИФА.

4.12. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70% раствором этилового спирта.

5. ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ

5.1. Выполнять процедуру анализа следует в строгом соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов.

5.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

5.3. Не использовать реагенты других производителей.

5.4. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа (за исключением **ФСБ-Т(x26)**, **РРО** и **Стоп-реагент** – унифицированных неспецифических компонентов).

5.5. Не подвергать реагенты воздействию высоких температур и прямых солнечных лучей в процессе использования и хранения.

5.6. Недопустимо замораживание набора реагентов, как целиком, так и отдельных ее компонентов.

5.7. Исследования проводить в соответствии с условиями внешней среды для постановки анализа, представленными в таблице 2.

Таблица 2. Условия внешней среды для постановки анализа

№п/п	Показатели	Значения
1	Температура воздуха	18-25°C
2	Относительная влажность	40-60%

5.8. Не проводить исследования в присутствии паров щелочей, кислот, альдегидов, в запыленном помещении.

5.9. Для дезинфекции использовать реагенты, не оказывающие воздействия на ферментативную реакцию: дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

5.10. В помещении, где проводится исследование, не использовать дезинфицирующие средства, содержащие активный кислород и хлор.

5.11. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

5.12. Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

5.13. При работе с образцами и реагентами набора использовать чистые, новые одноразовые наконечники отдельно для каждого анализируемого образца и компонента набора реагентов.

5.14. Для отмывки **Иммуносорбента** рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости дистиллированной водой. Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.

5.15. Необходимо исключить контакт металлических предметов с растворами РК и ТМБ. Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую после промывки, для растворов РК и ТМБ.

5.16. Для отбора РК и ТМБ использовать разные дозаторы пипеточные. При использовании одного дозатора необходимо тщательно следить за чистотой посадочного конуса дозатора. Перед сменой реагента тщательно обрабатывать внутреннюю и внешнюю поверхности посадочного конуса 70% этиловым спиртом.

5.17. Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

5.18. Для отмывки Иммуносорбента рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости водой очищенной (дистиллированной). Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.

5.19. Для исключения контаминации образцов друг другом калибровочных образцов и К(+) требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термогигрометр, позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне $0-30^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, относительную влажность – 20-90%;

- дозаторы лабораторные переменного объема одно- и многоканальные вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- наконечники одноразовые к дозаторам лабораторным вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- ванночки для разведения компонентов;

- микроцентрифуга лабораторная на 1000-3000 об/мин;

- термостатирующее устройство для планшетов (или термостат) с режимом термостатирования $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$;

- орбитальный термошейкер, поддерживающий температуру $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ с частотой вращения платформы 700 об/мин;

- устройство для промывания планшета (вошер);

- спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий выполнять измерения оптической плотности содержимого лунок планшета при 405 нм и/или 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр) или анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;

- холодильная и морозильная камеры;

- цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;

- ёмкость с крышкой для жидкого дезинфицирующего средства;

- вода дистиллированная;

- бумага фильтровальная;

- таймер;

- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;

- лабораторная посуда.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

7.1. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца – 10 мкл.

7.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови до анализа ИФА хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8°C. Длительное (до 6 месяцев) хранение анализируемых образцов осуществлять при температуре –20°C.

7.3. Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27°C) тщательно перемешать для устранения возникающего при заморозке градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждая последующая заморозка-разморозка снижает качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования, производитель набора реагентов рекомендует использовать только однократное замораживание-размораживание образцов, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

7.4. Не рекомендуется использование для исследования образцов с видимым микробным загрязнением («проростом»).

7.5. Образцы, содержащие осадок, взвешенные частицы, перед анализом подвергнуть центрифугированию в течение 10 мин при частоте вращения 3000 об/мин.

Внимание!

Перед подготовкой реагентов к работе и проведением исследования производитель настоятельно рекомендует еще раз прочитать раздел «Обеспечение качества исследований» настоящей инструкции по применению!

8. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

8.1. Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный **Иммуносорбент**.

Выдержать компоненты в течение 30 мин при температуре от 18 до 28°C, аккуратно перемешать.

Внимание!

КО₀, КО₁₀, КО₂₀₀, КО₁₀₀₀, К(+), РРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные **КО₀, КО₁₀, КО₂₀₀, КО₁₀₀₀, К(+), РРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

ФСБ-Т(x26) представлен в виде концентрата. Требуется разведения.

8.2. Подготовка Иммуносорбента

Вскрыть пакет с **Иммуносорбентом**. Установить в рамку **Иммуносорбента** необходимое количество стрипов. Неиспользуемые в данной постановке стрипы сразу после вскрытия пакета с планшетом поместить в фольгированный пакет с застежкой типа «зип-лок». Из пакета удалить остаточный воздух, закрыть застежку, убрать в холодильную камеру.

Хранить неиспользованные стрипы при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора реагентов.

Рамку планшета сразу после использования промыть 70% этиловым спиртом и затем дистиллированной водой (ГОСТ Р 58144-2018). Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

8.3. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора **ФСБ-Т(x26)** возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с **ФСБ-Т(x26)** выдержать при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ до полного растворения солей.

Необходимое количество рабочего промывочного раствора **ФСБ-Т** приготовить в соответствии с таблицей 3.

Рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 18 до 28°C не более 15 суток или при температуре от 2 до 8°C не более 45 суток.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора **ФСБ-Т(x26)** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Таблица 2. Приготовление рабочего раствора **ФСБ-Т(x26)**

Количество используемых стрипов, шт.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(x26) , мл	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	14,0	16,0	18,0	20,0	22,0	30,0
Вода дистиллированная, мл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	750

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Процедура №1 (использование термощейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Количественное выявление: В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₀, КО₁₀, КО₂₀₀, КО₁₀₀₀, К(+). В оставшиеся лунки внести по 90 мкл РРО, а затем по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой. Качественное выявление: В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₁₀, и КО₂₀₀. В оставшиеся лунки внести по 90 мкл РРО, а затем по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм. В этом случае калибровочный образец 1000 МЕ/мл не использовать. При внесении образца в РРО цвет РРО должен меняться.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: $37\pm 1^\circ\text{C}$	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмытки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл РК .	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
	Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37±1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ .	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37±1°C	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при основной длине волны 405 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции. Допускается измерение при одной длине волны – 405 либо 450 нм.

Процедура №2 (использование термостата)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Количественное выявление: В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₀, КО₁₀, КО₂₀₀, КО₁₀₀₀, К(+) . В оставшиеся лунки внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой. Качественное выявление: В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₁₀, и КО₂₀₀ . В оставшиеся лунки внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм. В этом случае калибровочный образец 1000 МЕ/мл не использовать. При внесении образца в РРО цвет РРО должен меняться.

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 20 мин при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгата РК. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 20 мин, при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ.	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин, при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при основной длине волны 405 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции. Допускается измерение при одной длине волны – 405 либо 450 нм.

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «Toxoplasma IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить так же, как и для ручной постановки анализа.

10. РАСЧЕТЫ

Результаты регистрируют на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 405 нм, и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм.

При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. В этом случае калибровочный образец КО₁₀₀₀ не использовать.

Допускается измерение при одной длине волны – 405 либо 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

Для определения концентрации IgG антител строят в линейных координатах калибровочный график зависимости значений оптической плотности от концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* (МЕ/мл) в калибровочных образцах.

Концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в контрольном и аналитическом образцах находят по калибровочному графику.

10.1. Критерии правильности теста

Количественное выявление:

При измерении ОП на основной длине волны 405 нм

– $ОП_0 < 0,100$, где ОП₀ – значение оптической плотности в лунках с калибровочным образцом КО₀;

– $ОП_{10}/ОП_0 \geq 1,000$, где ОП₁₀ и ОП₀ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами КО₁₀ и КО₀;

– $ОП_{1000} \geq 1,000$, где ОП₁₀₀₀ – значение оптической плотности в лунке с КО₁₀₀₀;

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона;

– значения оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяют условию:

$$ОП(КО_0) < ОП(КО_{10}) < ОП(КО_{200}) < ОП(КО_{1000})$$

При измерении ОП на основной длине волны 450 нм:

– $ОП_0 < 0,200$;

– $ОП_{10}/ОП_0 \geq 1,000$, где ОП₁₀ и ОП₀ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами КО₁₀ и КО₀;

– $ОП_{200} > 1,000$, где ОП₂₀₀ – значение оптической плотности в лунке с КО₂₀₀;

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона;

– значения оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяют условию:

$$ОП(КО_0) < ОП(КО_{10}) < ОП(КО_{200})$$

Качественное выявление при измерении ОП на основной длине волны 450 нм:

– значение $ОП_{200} > 0,500$, где ОП₂₀₀ – значение оптической плотности в лунках с калибровочным образцом КО₂₀₀

– значения оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяют условию:

$$ОП(КО_{10}) < ОП(КО_{200})$$

10.2. Интерпретация результатов

Количественная интерпретация результатов

Для интерпретации результатов теста построить в линейных координатах калибровочный график зависимости значения оптической плотности от концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в калибровочных образцах (МЕ/мл). По калибровочному графику определить концентрацию IgG к *Toxoplasma gondii* (МЕ /мл) анализируемых образцов.

Если $ОП_{обр} > ОП_{1000}$ (при измерении на основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр} > ОП_{200}$ (при измерении на основной длине волны 450 нм), где ОП_{обр} – значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «более 1000 МЕ/мл» или «более 200 МЕ/мл» соответственно.

Если $ОП_{обр} < ОП_{10}$ (при измерении на основной длине волны 405 нм и 450 нм), где $ОП_{обр}$ – значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «менее 10 МЕ/мл».

Качественная интерпретация результатов

Если ОП анализируемого образца меньше ($<$) $ОП_{10}$, где $ОП_{10}$ – значение оптической плотности в лунке с $КО_{10}$, результат исследования образца считают отрицательным: IgG антитела к *Toxoplasma gondii* не обнаружены.

Если ОП анализируемого образца больше либо равно ($\geq$) $ОП_{10}$, где $ОП_{10}$ – значение оптической плотности в лунке с $КО_{10}$, результат исследования образца считают положительным: IgG антитела к *Toxoplasma gondii* обнаружены.

11. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

11.1. Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

11.2. Все промывные растворы, собранные в специальный контейнер и обработанные дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке, следует утилизировать как отходы класса В.

11.3. Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий", следует утилизировать как отходы класса В.

11.4. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукomплектовать.

11.5. Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.

11.6. Неиспользованные калибровочные и контрольные образцы, конъюгат и Иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

11.7. Неиспользованные концентрат РРО, ТМБ и Стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

11.8. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ ТЕСТА

Следует помнить, что результаты тестирования на антитела не могут быть единственным критерием для диагностики или исключения токсоплазмоза, или для определения статуса инфекции.

Отрицательный результат исследования при наличии инфицирования *Toxoplasma gondii* возможен:

- у пациентов со слабым иммунным ответом (состояние иммуносупрессии).

- в начальный период инфицирования *Toxoplasma gondii*, когда количество антител недостаточно для выявления инфекции.

Противопоказания к применению: термин «противопоказания» не применим для медицинских изделий для диагностики *in vitro*. Информация об остаточных рисках, связанных с применением медицинского изделия, включена в информацию, предоставляемую производителем, как ограничения применения и меры предосторожности.

13. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в таблице 3.

Таблица 3. Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов

Параметр	Период	Условия
Срок годности набора реагентов	24 месяца	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Замораживание не допускается
Транспортировка	В течение срока годности	при температуре от 2 до 8°C
	10 суток	при температуре от 9 до 28°C
Вскрытые компоненты: Иммуносорбент КО ₈ , КО ₁₀ , КО ₂₀₀ , КО ₁₀₀₀ , К(+), ФСБ-Т(х26), РРО, РК, ТМБ, Стоп-реагент	В течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	Не более 15 суток	при температуре от 18 до 28°C
	Не более 45 суток	при температуре от 2 до 8°C

14. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «Toxoplasma IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА», требованиям нормативной и технической документации, а также качество и безопасность продукта в течение всего срока годности.

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, РФ, Новосибирская область, г.о. рабочий посёлок Кольцово, рп Кольцово, ул Садовая, д. 2/7.

Тел. +7 (383) 209-34-54, info@imbian.ru, www.imbian.ru

15. ФОРМА ПОДАЧИ РЕКЛАМАЦИЙ

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставить:

- рекламационный набор реагентов с сопроводительным письмом, содержащим информацию о выявленных несоответствиях;
- исследуемые образцы;
- протоколы исследований, выполненных другим методом (указать наименование, серию, срок годности набора);
- протоколы исследований, выполненных референтным набором (указать наименование, серию, срок годности набора).

16. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Изготовитель		Использовать до
	Дата изготовления		Не использовать повторно
	Код серии		Биологический риск
	Каталожный номер		Не допускать воздействия солнечного света
	Обратитесь к инструкции по применению		Содержимого достаточно для 96 определений
	Температурный диапазон		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Беречь от влаги		Не использовать при поврежденной упаковке
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

17. ШТРИХ-КОД Набор реагентов для иммуноферментного качественного и количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к *Toxoplasma gondii* «Toxoplasma IgG-кач/кол-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-156-41390295-2022: 4620102803208.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06
Генеральный директор
ООО «ИМБИДАН ЛАБ»
В.В. Осипова
"29" декабря 2022 г.