

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»



В.В.Осипова
2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М (IgM) к *Toxoplasma gondii* в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» «Toxoplasma IgM захват-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-161-41390295-2022

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

1.1. Назначение набора

Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М (IgM) к *Toxoplasma gondii* в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» «Toxoplasma IgM захват-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-161-41390295-2022 предназначен для качественного выявления антител класса М (IgM) к *Toxoplasma gondii* в сыворотке и плазме (с гепарином, ЭДТА и цитратом натрия) крови человека методом «захвата» иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов «Toxoplasma IgM захват-ИМБИАН-ИФА» рекомендуется применять для диагностики *in vitro* в следующих случаях:

- как вспомогательное средство диагностики токсоплазмоза;
- для выявления первичного инфицирования *Toxoplasma gondii*;
- для дифференциальной диагностики токсоплазмоза и других TORCH-инфекций.

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 IgM захват-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 «Toxoplasma IgM захват-ИМБИАН-ИФА» представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Состав набора реагентов

Название компонента	Описание компонента	Комплект №1	Комплект №2	Комплект №3
Иммуно-сорбент	96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированными моноклональными антителами к IgM человека. Готов к применению.	1 шт.	2 шт.	5 шт.
К(+)	Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий IgM антитела к <i>Toxoplasma gondii</i> . Прозрачная жидкость желтого цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (1,0 мл)	2 флакона (1,0 мл)	1 флакон (5,0 мл)
К(-)	Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий IgM антитела к <i>Toxoplasma gondii</i> . Прозрачная жидкость синего цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (2,0 мл)	2 флакона (2,0 мл)	1 флакон (10,0 мл)
ФСБ-Т(х26)	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Содержит бензоат натрия (0,2%). Требуется разведения.	1 флакон (30,0 мл)	2 флакона (30,0 мл)	1 флакон (250,0 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (12,0 мл)	2 флакона (12,0 мл)	1 флакон (60,0 мл)
РПРО	Раствор для предварительного разведения образцов. Опалесцирующая жидкость синего цвета. Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.	1 флакон (12,0 мл)	2 флакона (12,0 мл)	1 флакон (60,0 мл)
РК	Раствор конъюгата. Конъюгат рекомбинантных антигенов <i>Toxoplasma gondii</i> с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость зеленого цвета. Содержит фенол (0,1%).	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)

	Готов к применению.			
ТМБ	Раствор тетраметилбензидина. Прозрачная бесцветная жидкость. <i>Содержит бензоат натрия (0,2%).</i> Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)
Стоп-реагент	<i>Содержит кислоту серную (1,0 моль/литр).</i> Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (61,0 мл)
Планшет для предварительного разведения образцов		1 шт.	2 шт.	5 шт.
Ванночки для реагентов		3 шт.	6 шт.	15 шт.
Пленка для заклеивания планшета		3 шт.	6 шт.	15 шт.
Наконечники для пипеток		24 шт.	48 шт.	120 шт.
Инструкция по применению набора реагентов		1 шт.	1 шт.	1 шт.

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

2.2. Число анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на 96 определений (комплект №1), 192 определения (комплект №2) и 480 определений (комплект №3), включая контрольные 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.

2.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов основан на методе «захвата» иммуноферментного анализа. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы моноклональные антитела к IgM антителам человека (вторичные антитела). В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgM антител к *Toxoplasma gondii* образуется комплекс (вторичные антитела-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с раствором конъюгата **РК** (рекомбинантный антиген *Toxoplasma gondii*, меченный пероксидазой хрена). При добавлении раствора **ТМБ** в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением **Стоп-реагента**. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству IgM к антигену *Toxoplasma gondii* в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

3. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1. Аналитические характеристики

3.1.1. Чувствительность

Чувствительность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-Toxoplasma gondii IgM-контрольная панель сывороток» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100% без ложноотрицательных результатов.

3.1.2. Предел обнаружения

Минимально определяемая концентрация IgM к *Toxoplasma gondii* при исследовании на международном стандарте «WHO International Standard 4th IS for Antibodies, Human, to Toxoplasma gondii NIBSC code: 13/132» – 0,5 МЕ/мл.

3.1.3. Специфичность

Специфичность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-*Toxoplasma gondii* IgM-контрольная панель сывороток» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100% без ложноположительных результатов.

3.1.4. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний повторяемость определялась для трех положительных образцов в 30 повторях на шести сериях набора реагентов «*Toxoplasma* IgM захват-ИМБИАН-ИФА». Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения оптической плотности K(+) не превысили 8%.

В рамках клинических испытаний внутрисерийный коэффициент вариации результатов постановки на наборе реагентов «*Toxoplasma* IgM захват-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 7 положительных образцов сыворотки и плазмы, содержащих антитела к *Toxoplasma gondii* в 10 повторях каждого образца не превышает 8,0%.

Межсерийный коэффициент вариации результатов постановки на наборе реагентов «*Toxoplasma* IgM захват-ИМБИАН-ИФА» при исследовании 7 положительных образцов сыворотки и плазмы, содержащих антитела к *Toxoplasma gondii* в 10 повторях каждого образца не превышает 8,0%.

3.1.5. Правильность

Правильность определения положительного контроля в ходе проведения внутренних испытаний набора реагентов составила 100%.

3.2. Диагностические характеристики

3.2.1 Перекрестная реактивность

В рамках проведения клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 270 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ, не содержащих антитела к *Toxoplasma gondii* и содержащих антитела к ВИЧ-1,2, цитомегаловирусу, *Varicella zoster*, вирусу герпеса 6 типа, вирусу герпеса 8 типа, вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, вирусам гепатита В и С, *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 отсутствуют.

3.2.2 Интерферирующие вещества

В рамках клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа набора «*Toxoplasma* IgM захват-ИМБИАН-ИФА» проводили на образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих антитела к *Toxoplasma gondii*.

На результат анализа не оказывают влияние гемоглобин (до 300,0 г/л), билирубин (до 300,0 мг/л), холестерин (до 4,0 г/л), общий белок (до 150,0 г/л), глюкоза (до 2,0 г/л), триглицериды (до 10,0 г/л), этанол (2,0 г/л), молочная кислота (до 400,0 мг/л) и мочевины (до 800,0 мг/л) в клинических образцах.

3.2.3 Эквивалентность

В рамках клинических испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «*Toxoplasma* IgM захват-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке анализа на сыворотке и плазме крови человека (с гепарином, цитратом натрия (3,2%) и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента, содержащих и не содержащих антитела к *Toxoplasma gondii*, методом ИФА при постановке по процедуре №1 (термошейкер) и процедуре №2 (термостат).

3.2.4 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%.

3.2.5 Диагностическая чувствительность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность выявления антител к *Toxoplasma gondii* определяли на 254 положительных образцах, показана 100% чувствительность (ДВ 95%, ДИ: 98,83% – 100%).

3.2.6 Диагностическая специфичность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность выявления антител к *Toxoplasma gondii* определяли на 510 отрицательных образцах, показана 100% специфичность (ДВ 95%, ДИ: 99,41% – 100%).

3.2.7 Стабильность

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для подтверждения срока годности и условий хранения набора «Toxoplasma IgM захват-ИМБИАН-ИФА».

В результате установлено, набор «Toxoplasma IgM захват-ИМБИАН-ИФА» сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8°C в течение срока годности (24 месяцев) и в течение 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после транспортировки при температуре от 2 до 28°C в течении 10 суток и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности (24 месяцев) и в течение 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и хранения их при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности (24 месяцев) 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 при температуре от 18 до 28°C или 45 суток при температуре от 2 до 8°C.

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

3.1. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 2б.

3.2. Набор реагентов предназначен только для профессионального применения. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, 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 клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

3.3. Так как контрольные и анализируемые образцы являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, маску, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток.

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

3.5. Сыворотка крови человека, использованная для приготовления положительного контроля, инактивирована нагреванием при температуре (56±1)°C в течение 3 ч, содержит антитела IgM к *Toxoplasma gondii* человека и не содержит антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

3.6. Сыворотка крови человека, использованная для приготовления отрицательного контроля, инактивирована нагреванием при температуре (56±1)°C в течение 3 ч, не содержит

антитела к *Toxoplasma gondii* человека, и не содержит антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

3.7. В состав компонентов **К(+)**, **К(-)**, **РРО**, **РК**, **ТМБ**, **ФСБ-Т(х26)** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **К(+)**, **К(-)**, **РРО**, **РПРО** содержат 0,1% Проклина 300; **РК** – 0,1% фенола; **ТМБ** и **ФСБ-Т(х26)** – 0,2% бензоата натрия.

3.8. **Стоп-реагент** обладает раздражающим действием, за счет входящей в состав серной кислоты (1,0 моль/литр). 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.

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

3.10. 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».

3.11. 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.

3.12. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70 % раствором этилового спирта или другим разрешенным к применению антисептическим средством.

4. ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ

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

4.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

4.3. Не использовать реагенты других производителей.

4.4. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа.

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

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

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

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

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

4.10. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

4.11. Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

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

4.13. Исключить контакт металлических предметов с **РК** и **ТМБ**.

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

4.15. Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую, после промывки **РК** и **ТМБ**.

4.16. Рекомендуется для отбора **РК** и **ТМБ** использовать разные пипеточные дозаторы. 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.

4.17. 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.

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Перечень оборудования и материалов, необходимых для постановки анализа:

- 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 $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ или орбитальный термошейкер, поддерживающий температуру $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и с частотой вращения платформы 700 об/мин.;
- устройство для промывания планшета (вошер);
- спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий выполнять измерения оптической плотности содержимого лунок планшета при 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр) или анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;
- холодильная или морозильная камера;
- цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;
- емкость с крышкой для жидкого дезинфицирующего средства;
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная;
- таймер;
- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;
- лабораторная посуда.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

6.1. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца – 10 мкл 10-тикратно разведённых образцов.

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

6.3. 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.

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

6.5. 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.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

7.1. Постановка анализа с использованием Набора реагентов должна быть проведена в нормальных климатических условиях и показателях внешней среды, указанных 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%

7.2. Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный **Иммуносорбент**. Все компоненты необходимо выдержать в течение 30 мин при температуре от 18 до 28°C, аккуратно перемешать.

Внимание!

K(+), K(-), РРО, РПРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Неиспользованные компоненты набора реагентов хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

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

7.3. Подготовка образцов.

Исследуемые образцы необходимо развести в 10 раз в РПРО. Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРО и добавить по 10 мкл исследуемых образцов. Тщательно перемешать исследуемые образцы пятикратным пипетированием. При внесении образца в РПРО цвет РПРО должен меняться.

10-ти кратные разведенные образцы можно хранить не более 3 часов при температуре (18-26)°C.

7.4. 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 дистиллированной водой. Затем – 70% этиловым спиртом и повторно дистиллированной водой. Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

7.5. 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±1°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 3. Сводная таблица приготовления рабочих растворов

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

8. Проведение анализа

Процедура №1 (использование термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 100 мкл К(+) . Внести в две лунки по 100 мкл К(-) . Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1- К(+) , лунки B1 и C1 – К(-)	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл 10-тикратно разведенных образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. 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 400 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. Производитель рекомендует использовать режим отмытки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки РК из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 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. Производитель рекомендует использовать режим отмытки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхания лунок планшета 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. Внимание! Остатки ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер (без вращения). температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$ (допускается инкубация при комнатной температуре)	Внимание! Инкубацию проводить в защищенном от света месте
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 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 длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной – 450 нм референсный – 620-680 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции

Процедура №2 (использование термостата).

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	
2	Внести в 1 лунку планшета 100 мкл К(+). Внести в 2 лунки планшета по 100 мкл К(-). Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1- К(+), лунки B1 и C1 – К(-).	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки планшета внести по 90 мкл РРО, а затем по 10 мкл 10-тикратно разведенных образцов. Раствор тщательно и аккуратно перемешать пять раз пипетированием. Заклеить лунки планшета (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования.
4	Инкубировать планшет (стрипы) в течение 45 мин. Для инкубации использовать термостат. 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 400 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. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл РК. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.

		Внимание! Остатки РК из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 45 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 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. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл ТМБ.	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат. температура инкубации: 37± 1°C (допускается инкубация при комнатной температуре)	Внимание! Инкубацию проводить в защищенном от света месте
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 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 длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции.

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «Toxoplasma IgM захват-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить также как и для ручной постановки анализа.

9. Расчеты

Результаты регистрируют при помощи спектрофотометра вертикального сканирования. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм или используя два фильтра - 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр).

3.1. Показатели правильности определения

3.1.1. Значение ОП в лунке с **К(+)** должно быть не менее 1,000.

3.1.2. Для определения соответствия полученных результатов измерений критериям правильности теста рассчитывают среднее значение ОП в лунках с **К(-)** по формуле:

$$\text{ОП К(-)}_{\text{ср}} = \frac{(\text{ОП К(-)}_1 + \text{ОП К(-)}_2)}{2} (1).$$

Среднее значение ОП К(-)_{ср} должно быть не более 0,200 о.е.

При использовании 1 стрипа значение ОП К(-)_{ср} среднее не определяют, значение ОП в лунке с К(-) должно быть не более 0,200 о.е.

3.1.3. Если полученные значения ОП в лунках с контрольными образцами не соответствуют критериям правильности теста, результаты теста не учитывают. Исследование проводят повторно.

3.2. Расчет критического уровня

Рассчитать ОП критический уровень ОП_{крит} (cut off):

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП К}(-)_{\text{ср}} + 0,200^*.$$

При использовании одного стрипа:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП К}(-) + 0,200^*.$$

*0,200 – коэффициент, определенный методом статистической обработки результатов исследований на предприятии-изготовителе.

Или рассчитайте коэффициент позитивности (КП):

$$\text{КП} = \frac{\text{ОП}_{\text{обр}}}{\text{ОП}_{\text{крит}}}.$$

3.3. Интерпретация результатов

Если ОП анализируемого образца меньше (<) ОП_{крит} (или КП < 0,8), результат исследования образца считают отрицательным: антитела к *Toxoplasma gondii* не обнаружены.

Если ОП анализируемого образца больше или равно ($\geq$) $1,2 \times \text{ОП}_{\text{крит}}$ (или КП $\geq 1,2$), результат исследования образца считают положительным: антитела к *Toxoplasma gondii* обнаружены.

Если ОП анализируемого образца находится в диапазоне от $0,8 \times \text{ОП}_{\text{крит}}$ до $1,2 \times \text{ОП}_{\text{крит}}$ результат исследования образца считают неопределенным: необходимо провести повторное исследование образца, взятого через 1-2 недели. В случае повторного получения неопределенного результата, образец следует считать отрицательным.

10. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

10.1. 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-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий».

10.2. 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.

10.3. 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-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий», следует утилизировать как отходы класса В.

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

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

10.6. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли набора, **РК** и **Иммуносорбент** следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

10.7. Неиспользованные **ТМБ** и **Стоп-реагент** следует утилизировать, как отходы класса Г.

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

11. 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, поставляемую производителем, как ограничения применения и меры предосторожности.

12. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в таблице 5.

Таблица 5 – 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. Внимание! 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: К(+), К(-), ФСБ-Т(x26), РК, ТМБ, РРО, РПРО, Стоп-реагент, Иммуносорбент	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

13. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «*Toxoplasma IgM* захват-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 «*Toxoplasma IgM* захват-ИМБИАН-ИФА» направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Россия, Новосибирская область, р.п. Кольцово, ул. Садовая, 2/7, тел.: +7 (383) 209 34 54, info@imbian.ru, www.imbian.ru

14. ФОРМА РЕКЛАМАЦИИ

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 референсным набором (указать наименование, серию, срок годности набора).

15. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Использовать до		Запрет на повторное применение
	Дата изготовления		Изготовитель
	Код серии		Не допускать воздействия солнечного света
	Номер по каталогу		Содержимого достаточно для 96 определений
	Содержимого достаточно для 192 определений		Содержимого достаточно для 480 определений
	Обратитесь к инструкции по применению		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Предел температуры		Не использовать при повреждении упаковки
	Беречь от влаги		Биологический риск
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

16. ШТРИХКОД

№ комплекта	Штрих-код
Комплект №1	4 620102 803291
Комплект №2	4 620102 803307
Комплект №3	4 620102 803314

Разработал



Д.В.Буторин

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

75 лист *ав*
Генеральный директор
ООО «ИМЕИАН ЛАБ»
В.В. Осипова
"26" *августа* 2022 г.

