

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Стандартная панель образцов предприятия, содержащих и не содержащих антитела классов G и M к антигенам возбудителей токсоплазмоза, краснухи, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов» (СОП_{TORCH-204})

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая инструкция устанавливает порядок и условия применения СОП_{TORCH-204} - панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела классов G и M к возбудителям основных TORCH-инфекций.

Панель состоит из 12 жидких образцов.

Положительные образцы (с №1 по № 7 и с №9 по №12 (содержащие антитела класса G) и с №9 по №12, а также №2; №4; №5 (содержащие антитела класса M)) получены от пациентов с первичной либо рецидивирующей инфекцией, подтвержденной серологически на присутствие IgG либо IgM антител к возбудителям TORCH-инфекций методом планшетного ИФА.

Отрицательные образцы (№8 (не содержащий антитела классов G и M к возбудителям TORCH-инфекций); № 1; №3; №6 и №7 (не содержащие антитела класса M к тем же возбудителям)) отобраны у лиц, предварительно протестированных серологическими методами и подтвердивших полное отсутствие антител данных классов к возбудителям TORCH-инфекции.

Сыворотки внутренней панели не содержат антитела к ВГС, ВИЧ-1, ВИЧ-2 и HBs-антиген.

Сыворотки аттестованы в наборах реагентов для иммуноферментного выявления IgG или IgM антител к возбудителям TORCH-инфекции: «ИФА-Токсо-IgG/M» кат.№ 05.03; 05.01; «ИФА-Краснуха-IgG/M», кат.№ 06.02; 06.01; «ИФА-ВПГ1,2-IgG» кат.№ 08.02; 08.03; «ИФА-ВПГ1+2-IgG/M» кат.№ 08.01; 08.04; «ИФА-ЦМВ-IgG/M» кат.№ 07.01; 07.02; производства ЗАО «ЭКОлаб» по показателям оптической плотности (ОП).

Образцы панели инаktivированы при температуре 56°C в течение 2ч. Сыворотки представляют собой прозрачные, слегка опалесцирующие светло-желтого цвета жидкости; образцы спинномозговой жидкости – прозрачные, слегка опалесцирующие бесцветные жидкости.

Характеристика каждого образца представлены в приложении к паспорту.

2 НАЗНАЧЕНИЕ

Внутренняя панель сывороток или образцов спинномозговой жидкости, содержащих и не содержащих антитела IgG/M к возбудителям TORCH-инфекций предназначена для оценки чувствительности и специфичности соответствующего набора реагентов; для входного контроля его качества; для выявления IgG/M антител к основным возбудителям TORCH-инфекций на производстве и в ОБТК, а также для научно-производственных целей.

3 СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Внимание! При постановке ИБ соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых или латексных перчатках и респираторе.
- все использованные материалы подвергать обработке раствором этилового спирта с объемной долей 70% или раствором перекиси водорода с массовой долей 6% с последующей выдержкой при температуре от 17 °C до 27 °C не менее 2 ч.

3.1 Данные комплекта СОП (номер серии, срок годности, количество образцов комплекта) зарегистрировать в специальном журнале. Там же проводить учет расходования образцов набора с указанием цели проводимых работ.

3.2 Работу с образцами комплекта СОП проводить на поверенном оборудовании в асептических условиях с использованием поверенных автоматических пипеток и одноразовых наконечников.

3.3 Рабочие разведения образцов комплекта СОП готовить в соответствии с Инструкцией по применению на контролируемый набор реагентов.

3.4 Каждый положительный образец и каждый отрицательный образец (см. п.1) комплекта СОП в рабочем разведении внести в лунки планшета.

3.5 Провести ИФА в соответствии с Инструкцией по применению на контролируемый набор реагентов.

3.6 При проведении контроля качества наборов реагентов, основанных на других методах иммунологического анализа, количество образцов панели и проведение исследований регламентируется соответствующими нормативными документами.

4 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов по образцам панели проводить только в том случае, если полученные значения по контрольным образцам набора укладываются в регламентированные пределы, заложенные в Инструкции по применению контролируемого набора, а также выполняются все другие условия, позволяющие приступить к учету результатов в соответствии с данной Инструкцией.

Критический уровень вычислять в соответствии с формулой, приведенной в Инструкции по применению на контролируемый набор реагентов.

Результат по каждому образцу панели учитывается как положительный или отрицательный в соответствии с правилами изложенными в Инструкции по применению на контролируемый набор реагентов.

Чувствительность набора реагентов при контроле на образцах панели, содержащих IgG к основным возбудителям TORCH-инфекций, должна быть 100 %.

Специфичность набора реагентов при контроле на образцах панели, не содержащих IgM к основным возбудителям TORCH-инфекций, должна быть 100 %.

5 ФОРМА ВЫПУСКА

Комплект СОП_{TORCH}-204 состоит из 12 флаконов с жидкими образцами, содержащими в качестве консерванта натрия азид.

К нему прилагается:

Инструкция по применению;

Паспорт на серию панели;

Приложение.

6 СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Срок годности панели образцов указан в паспорте.

СОП хранить при температуре от 2°C до 8°C в течение 6 месяцев.

Допускается однократное замораживание-оттаивание образцов.

Для диагностики «in vitro».

ЗАО «ЭКОлаб» г Электрогорск

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 2
Начальник ОНД ЗАО "ЭКОпаб"
Гашенко Т.Ю.
"13" 2015 г.





В.Ю.Борисов

2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов

для одновременного мультиплексного выявления антител классов G и M к антигенам возбудителей TORCH-комплекса: токсоплазмоза, краснухи, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1 и 2 типов методом линейного иммуноблоттинга
"Лайн-Блот TORCH -профиль"

Комплект № 1 "Лайн-Блот TORCH -профиль-IgG"

Комплект № 2 "Лайн-Блот TORCH -профиль-IgM"

Регистрационное удостоверение № _____ от _____.г.

НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для одновременного мультиплексного выявления IgG и IgM антител к антигенам возбудителей TORCH-комплекса: токсоплазмоза, краснухи, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов методом линейного иммуноблоттинга» "Лайн-Блот TORCH -профиль" предназначен для выявления антител классов G/M к антигенам возбудителей TORCH-инфекций методом линейного иммуноблоттинга с использованием нативных и рекомбинантных антигенов, т.е. для скринингового определения иммунного статуса пациента по отношению одновременно к четырем патогенным инфекциям; определения момента заражения для *Toxoplasma gondii*; определения наличия защитного уровня иммунитета для краснухи (особенно для беременных или планирующих беременность женщин), а также для дифференциации типа вируса простого герпеса.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

		компл. № 1	компл. № 2
Иммуносорбент	тест-полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны, на каждую из которых в виде поперечных линий нанесены нативные или рекомбинантные аналоги антигенов <i>Toxoplasma gondii</i>, Rubella, CMV, HSV-1 и HSV-2, а также три контрольных линий: контроли интенсивности окрашивания: • линия с минимальной интенсивностью окрашивания ("0,5+") • линия со средней интенсивностью окрашивания ("2,0+"). контроль внесения образца ($K_{во}$) (см. рис. 1). <u>Примечания:</u> Линия «0,5+» соответствует критическому уровню интенсивности окрашивания. Нанесенные на стрипы антигены визуально не определяются. Стрипы промаркированы и находятся в пластмассовом контейнере (пробирке с крышкой).	24 стрипа	24 стрипа
Конъюгат	антитела козы к IgG человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой в стабилизирующем растворе; прозрачная слегка пенящаяся жидкость фиолетового цвета	1 фл. (45 мл)	-
	антитела козы к IgM человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой в стабилизирующем растворе; прозрачная слегка пенящаяся жидкость фиолетового цвета	-	1 фл. (45 мл)
РФ-сорбент	Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость, бесцветная или слегка желтоватого цвета	-	1 фл. (2,5 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	мутная, слегка пенящаяся жидкость зеленого цвета	1 фл. (30 мл)	1 фл. (30 мл)
10-кратный концентрат промывочного раствора [ПР(х10)]	прозрачная пенящаяся жидкость желтого цвета	1 фл. (50 мл)	1 фл. (50 мл)
Субстратный раствор (СР)	прозрачная жидкость светло-зеленого цвета	1 фл. (45 мл)	1 фл. (45 мл)

Примечание. Набор включает все реагенты, необходимые для анализа, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

В каждый комплект поставки входят также принадлежности:

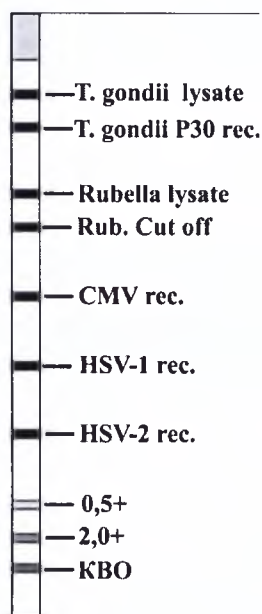
ванночки пластмассовые с канавками – 3 шт. (по 8 канавок) или 4 шт. (по 6 канавок),

клеякая пленка для планшетов – 4 шт., пинцет пластиковый – 1 шт.

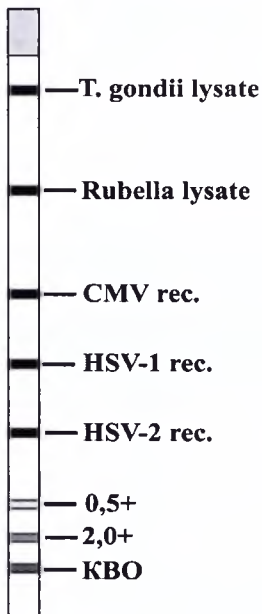
Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложены инструкция по применению стандартный протокол учета результатов.

Рис. 1. Стандартная схема нанесения антигенов возбудителей TORCH-инфекций и контролей на стрип

Комплект №1 (профиль-IgG)



Комплект №2 (профиль-IgM)



ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации набора позволяет одномоментное исследование 24 образцов. Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов.

Возможно использование образцов сыворотки или плазмы крови человека, а также образцов спинномозговой жидкости¹ (ликвор), как в "ручной" постановке, так и в постановке с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце антител к возбудителям TORCH-инфекций они связываются с антигенами иммуносорбента. Образовавшиеся комплексы антиген-антитело связываются с конъюгатом – козьими антителами к IgG/IgM человека, меченными щелочной фосфатазой, и выявляются по цветной реакции с хромогеном, которая приводит к появлению в соответствующих зонах стрипа окрашенных линий. Интенсивность их окрашивания пропорциональна содержанию антител класса G/M в исследуемой пробе.

¹ Только для комплекта №1 "Лайн-Блот TORCH -профиль-IgG"

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность и аналитическая специфичность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, содержащих и не содержащих антитела к антигенам возбудителей токсоплазмоза, краснухи, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов (СОП_{TORCH}-204), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные либо отрицательные по каждой инфекции отдельно, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%):

Комплект №1 "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG"

Ифекция	Токсоплазма	Краснуха	Цитомега- ловир	Вирус про- стого гепеса 1 типа	Вирус про- стого гепеса 2 типа
Образцы					
Сыворотки крови	98,00- 100%	99,42- 100%	99,33- 100%	99,45- 100%	96,62- 100%
	114*	397*	345*	417*	67*
Плазма крови	97,50- 100%	98,66- 100%	98,62- 100%	98,78- 100%	97,30- 100%
	91*	171*	166*	188*	84*
СМЖ	87,33- 100%	88,59- 100%	85,77- 100%	89,62- 100%	83,77- 100%
	17*	19*	15*	21*	13*

Примечание:

*Число исследованных клинических образцов с истинно положительными результатами анализа.

Комплекта №2 "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM"

Ифекция	Токсоплазма	Краснуха	Цитомега- ловир	Вирус про- стого гепеса 1 типа	Вирус про- стого гепеса 2 типа
Образцы					
Сыворотки крови	96,17- 100%	95,59- 100%	97,13- 100%	95,50- 100%	95,83- 100%
	59*	51*	79*	50*	54*
Плазма крови	97,70- 100%	97,72- 100%	98,07- 100%	97,75- 100%	97,68- 100%
	99*	100*	118*	101*	98*

Примечание:

*Число исследованных клинических образцов с истинно положительными результатами анализа.

Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%):

Комплект №1 "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG"

Ифекция	Токсоплазма	Краснуха	Цитомега- ловир	Вирус про- стого гепеса 1 типа	Вирус про- стого гепеса 2 типа
Образцы					
сыворотки крови	99,61- 100%	99,17- 100%	99,36- 100%	99,21- 100%	99,64- 100%
	589*	275*	361*	291*	640*
Плазма крови	99,57- 100%	99,49- 100%	99,50- 100%	99,48- 100%	99,58- 100%
	533*	453*	460*	442*	544*
СМЖ	93,26- 100%	92,84- 100%	93,63- 100%	92,37- 100%	93,97- 100%
	33*	31*	35*	29*	37*

Примечание:

*Число исследованных клинических образцов с истинно отрицательными результатами анализа.

Комплекта №2 "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM"

Ифекция	Токсоплазма	Краснуха	Цитомега- ловир	Вирус про- стого гепеса 1 типа	Вирус про- стого гепеса 2 типа
Образцы					

Линейки крови	99,51- 100%	99,52- 100%	99,48- 100%	99,53- 100%	99,52- 100%
	475*	483*	443*	486*	483*
Линейки крови	99,67- 100%	99,67- 100%	99,66- 100%	99,67- 100%	99,67- 100%
	694*	690*	668*	691*	695*

Примечание:

Число исследованных клинических образцов с истинно отрицательными результатами анализа.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка (плазма) крови человека объемом 20 мкл или образец СМЖ² объемом 40 мкл.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С или до 3 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом центрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в канавки ванночки с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания канавок ванночки.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин

² Только для комплекта №1 "Лайн-Блот TORCH -профиль-IgG"

Холодильник бытовой.

Автоматическое качающее устройство: шейкер-качалка с углом наклона платформы 6-8° частотой качания 20-60 об/мин или орбитальный шейкер с диаметром орбиты 10-12 мм и частотой вращения 90-160 об/мин.

Насос вакуумный.

Фильтровальная бумага.

Мерные стаканы или цилиндры вместимостью от 25 до 500 мл.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

Система для автоматизации иммуноблоттинга.

70 % раствор спирта этилового и 6 % раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ПР)

При использовании системы для автоматизации иммуноблоттинга или при одновременном использовании всех стрипов в "ручной" постановке содержимое флакона с ПР(х10) перелить в мерную емкость вместимостью 500 мл и водой очищенной довести объем жидкости до метки; тщательно перемешать.

При дробной "ручной" постановке отобрать необходимый объем ПР(х10), довести до заданного объема водой очищенной, тщательно перемешать; объемы ПР(х10) и воды, необходимые для постановки с использованием разного числа стрипов, приведены в табл. 4.

Таблица 4

Количество стрипов	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
ПР(х10), мл	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44
Вода очищенная, до ...мл	80	120	160	200	240	280	320	360	400	440

Примечание. При использовании числа стрипов, не указанного в таблице, необходимые объемы реагентов определять, исходя из расчета 2 мл ПР(х10) и до 20 мл воды очищенной на 1 стрип.

Готовый раствор хранить при температуре от 18 до 25 °С не более 7 суток; при температуре от 2 до 8 °С – не более 1 месяца.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, РРО, конъюгат, РФ-сорбент и СР – готовы к применению. Растворы перед использованием обязательно перемешать осторожным встряхиванием флаконов.

Подготовка образцов (для комплекта №2)

Перед исследованием образца на наличие антител класса М, для получения более достоверного результата следует удалить из него IgM ревматоидного фактора (повышенный уровень которых характерен для ревматоидного артрита), а также избыток антител класса G.

Для этого исследуемый образец необходимо

- предварительно развести в соотношении 1:1 РФ-сорбентом (например, к 80 мкл РФ-бента добавить 80 мкл исследуемого образца сыворотки или плазмы крови,
- выдержать 30 мин при комнатной температуре,
- центрифугировать 5 мин при 2000 – 2500 об/мин при комнатной температуре,
- отобрать супернатант и сразу же исследовать его, как описано ниже.

Проведение анализа

Ручная постановка

1. Подготовить необходимое количество ванночек.

Примечание. При исследовании образцов СМЖ использовать для них отдельную ванночку (для удобства проведения стадии инкубации с конъюгатом)

Открыть пробирку со стрипами. Необходимое число стрипов (один стрип на каждый исследуемый образец) осторожно по одному извлечь из контейнера пинцетом и поместить в канавки ванночки маркированной стороной вверх. Плотнo закрыть контейнер с неиспользованными стрипами и поместить его для последующего хранения при температуре от 2 до 8 °С.

2. В канавки ванночки со стрипами внести по 1 мл РРО, выдержать 3-5 мин при встряхивании на шейкере с частотой качания 40-50 об/мин при температуре от 18 до 25 °С.

Внимание! Следите, чтобы при инкубациях и отмывках стрипы были полностью погружены в жидкость (не плавали частично на поверхности буфера), а реагенты во избежание смешивания не переливались через бортики канавок.

Внесение образцов должно сопровождаться быстрым и тщательным перемешиванием автоматической пипеткой. При внесении каждого исследуемого образца необходимо регистрировать номер соответствующего ему стрипа.

3. Отдельными наконечниками внести по 20 мкл исследуемых образцов сывороток или плазмы крови, либо по 40 мкл образцов СМЖ (для комплекта №1 – определение антител класса G).

Отдельными наконечниками внести по 40 мкл супернатанта для образцов сыворотки или плазмы крови.

4. Заклеить занятые канавки клейкой пленкой или закрыть крышкой. Поместить ванночку на шейкер. Инкубировать 2 ч при температуре от 18 до 25 °С.

5. Не позднее, чем за 5-10 мин до окончания инкубации приготовить рабочий промывочный раствор (см. п. Приготовление рабочего промывочного раствора).

6. После инкубации удалить жидкость из канавок ванночки, используя автоматическую пипетку или вакуумный насос, в емкость, содержащую дезинфицирующий раствор.

Внимание! Следует соблюдать осторожность, чтобы при удалении растворов из канавки не выпал стрип. Наконечник отсасывающего устройства после каждого контакта с различными образцами следует промывать дистиллированной водой или использовать для каждого образца отдельный одноразовый наконечник во избежание перекрестной контаминации.

7. Промыть каждый стрип 4 раза рабочим промывочным раствором, внося в каждую канавку по 2 мл раствора.

При первой промывке раствор удалить из канавок, как указано в п. 6, сразу после внесения.

При последующих трех промывках после внесения промывочного раствора выдерживать ванночку по 5 мин на шейкере. Удаление промывочного раствора проводить, как указано в п. 6.

8. Во все использованные канавки ванночки внести по 1,0 мл соответствующего конъюгата.

9. Инкубировать в течение 30 мин (для образцов сыворотки или плазмы крови) либо 45 мин (для образцов СМЖ) при температуре от 18 до 25 °С на шейкере

10. После инкубации удалить жидкость из канавок ванночки, как указано в п. 6. Промыть стрипы, как указано в п. 7.

Внимание! Промывку и удаление жидкости после реакции с конъюгатом выполняйте особенно аккуратно, т.к. даже следы конъюгата при контакте с хромогеном могут привести к неспецифическому окрашиванию всего стрипа, а не отдельных линий.

11. Внести во все использованные канавки по 1,0 мл субстратного раствора. Инкубировать 15 мин на шейкере в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25°C до появления на стрипе окрашенных линий.

12. Для остановки реакции удалить субстратный раствор, как указано в п. 6.

Промыть стрипы 4 раза, внося в канавки по 2 мл воды очищенной и выдерживая ванночку в течение 1 мин на шейкере. Воду удалять, как указано в п. 6.

13. Поместить стрипы между двумя листами фильтровальной бумаги маркированной стороной вверх и выдержать в защищенном от света месте до **полного высыхания**, после чего сразу же зарегистрировать результаты.

Регистрация и учет результатов

Регистрацию результатов проводить визуально, сравнивая интенсивность окраски антигенных линий с интенсивностью окраски контрольных линий «0,5+» и «2,0+» по табл. 5 (кроме вируса краснухи в комплекте №1).

Таблица 5

Интенсивность окрашивания антигенных линий	Оценка
Окрашивание отсутствует или менее интенсивно, чем "0,5+"	-
Интенсивность окрашивания равна "0,5+"	0,5+
Интенсивность окрашивания выше, чем "0,5+", но ниже "2+"	1+
Интенсивность окрашивания равна "2+"	2,0+
Интенсивность окрашивания выше, чем "2+"	3+
Интенсивность окрашивания очень яркая, т.е. значительно выше, чем "2+"	4+

Для интерпретации результатов по вирусу краснухи в комплектации №1 использовать таблицу 6:

Таблица 6

Наличие и интенсивность антигенных линий на стрипе	Оценка интенсивности окрашивания антигенной линии Rubella lysate	Результат исследования
Линия не окрашена или интенсивность ее окрашивания ниже Rub. Cut off	-	Отрицательный
Линия с интенсивностью окрашивания равной Rub. Cut off	0,5+	Неопределенный
Линия с интенсивностью окрашивания выше Rub. Cut off	1,0+	Положительный
Интенсивность окрашивания значительно выше, чем Rub. Cut off	2,0+	Положительный
	3,0+	
	4,0+	

Результаты, полученные на стрипах с исследуемыми образцами, учитывать только при соблюдении следующих условий:

- контрольная линия внесения образца (К_{ВО}) окрашена;

Примечание: Необходимо учитывать, что линия К_{ВО} при исследовании образцов СМЖ может быть окрашена слабее, вследствие меньшей концентрации IgG в них.

- хорошо различимы контрольные линии интенсивности окрашивания с четкой их дифференциацией: контрольная линия "2,0+" окрашена интенсивнее, чем линия "0,5+"

- линия Rub. Cut off (для комплекта №1) окрашена.

Если данные условия не соблюдаются, исследование необходимо повторить.

При исследовании образцов сыворотки (плазмы) неокрашенная линия К_{ВО} означает отсутствие образца. Слабое окрашивание линии К_{ВО} также может быть также следствием его разведения, снижающего содержание в нем IgG/IgM.

Для оптимального учета результатов проявленные стрипы рекомендуется прикреплять к протоколу так, чтобы контрольные линии интенсивности «0,5+» у всех стрипов и соответствующая линия на рисунке протокола были на одном уровне. В этом случае проявленные антигенные линии будут находиться на уровне линий соответствующих антигенов на рисунке протокола. Для закрепления стрипов на протоколе можно использовать полосы из защитной пленки для планшет, которыми комплектуется набор.

При соблюдении вышеперечисленных условий интерпретировать результаты, полученные на стрипах с исследуемыми образцами, используя табл. 7 (кроме вируса краснухи в комплекте №1).

Таблица 7

Наличие и интенсивность антигенных линий на стрипе	Результат исследования
Линия не окрашена или интенсивность ее окрашивания ниже 0,5+	Отрицательный
Линия с интенсивностью окрашивания 0,5+	Неопределенный
Две линии с интенсивностью окрашивания 0,5+	Положительный
Линия с интенсивностью окрашивания от 1,0+ до 4,0+	Положительный

Для интерпретации результатов по вирусу краснухи в комплекте №1 использовать таблицу 8:

Таблица 8

Наличие и интенсивность антигенных линий на стрипе	Оценка интенсивности окрашивания антигенной линии Rubella lysate	Результат исследования
Линия не окрашена или интенсивность ее окрашивания ниже Rub. Cut off	-	Отрицательный
Линия с интенсивностью окрашивания равной Rub. Cut off	0,5+	Неопределенный
Линия с интенсивностью окрашивания выше Rub. Cut off	1,0+	Положительный
Интенсивность окрашивания значительно выше, чем Rub. Cut off	2,0+	Положительный
	3,0+	
	4,0+	

При получении неопределенного результата рекомендуется провести повторное исследование; если в нем вновь будет получен неопределенный результат, рекомендуется взятие крови или образца СМЖ через 3-4 недели с проведением нового исследования на выявление антител к данному возбудителю.

Интерпретация результатов

Возбудитель-специфическая интерпретация результатов испытаний описана в таблице 9.

Для заключительной оценки результаты диагностических тестов «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG» и «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM» должны интерпретироваться совместно.

Таблица 9

Возбудитель-специфическая интерпретация результатов испытаний

Toxoplasma gondii (возбудитель токсоплазмоза)				
IgG		IgM	Интерпретация результата	Рекомендации
Лизат	p30 рек	Лизат		
Отриц.	Отриц.	Отриц.	Сeroотрицательный, нет иммунитета	Проводить мониторинг, повторить исследование через 8-12 недель.

Отриц.	Отриц.	Положит.	Подозрение на серо-конверсию (первичная инфекция)	Дальнейшие действия: 1.Подтверждение положительного результата IgM другими методами, например, «ИФА-Токсо-IgM», ЗАО «ЭКО-лаб», кат. № 05.01 и «Токсо-плазма-флюороген-IgM», ЗАО «ЭКОлаб», кат. № 05.07. 2.Повторное обследование через 10-14 дней.
Положит.	Отриц.	Положит.	Подозрение на недавнюю инфекцию	Дальнейшие действия: 1.Проведение теста на авидность для определения времени инфицирования, например, «ИФА-анти-Токсо-IgG-авидность» ЗАО «ЭКО-лаб», кат.№ 05.04. 2.Подтверждение положительного результата IgM другими методами, например, «ИФА-Токсо-IgM» ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 05.01 и «Токсоплазма-флюороген-IgM» «ЭКОлаб», кат.№ 05.07. 3.Повторное обследование через 10-14 дней.
Положит.	Положит.	Положит.	Подозрение на недавнюю инфекцию, однако, инфицирование произошло более 3 месяцев назад	После 12 недель беременности настоятельно рекомендуются дополнительные исследования: 1.Проведение теста на авидность для определения времени инфицирования, например, «ИФА-анти-Токсо-IgG-авидность» ЗАО «ЭКО-лаб», кат.№ 05.04. 2.Подтверждение положительного результата IgM другими методами, например, «ИФА-Токсо-IgM» ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 05.01 и «Токсоплазма-флюороген-IgM» «ЭКОлаб», кат.№ 05.07.
Положит.	Положит.	Отриц.	Подозрение на перенесенную инфекцию. Инфицирование произошло более 3 месяцев назад.	В целом нет необходимости в дальнейшей диагностике, однако, после 12 недель беременности настоятельно рекомендуются дополнительные исследования - проведение теста на авидность для определения времени инфицирования, например, «ИФА-анти-Токсо-IgG-авидность» ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 05.04. При наличии клинических показаний; подозрении на низкий уровень IgM антителообразования либо установления

				факта замедленного иммунного IgM ответа рекомендуется проведение дальнейших исследований.
Положит.	Отриц.	Отриц.	Подозрение на перенесенную инфекцию; время инфицирования невозможно определить	В целом нет необходимости в дальнейшей диагностике, однако, после 12 недель беременности настоятельно рекомендуются дополнительные исследования - проведение теста на авидность для определения времени инфицирования, например, «ИФА-анти-Токсо-IgG-авидность» ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 05.04. При наличии клинических показаний; подозрении на низкий уровень IgM-антитело-образования либо установления факта замедленного иммунного IgM ответа рекомендуется проведение дальнейших исследований.
Отриц.	Положит.	Неопределенный	Невозможно установить диагноз	Нетипичный результат теста. Настоятельно рекомендуется запросить повторный образец или повторить тест на другой тест-системе.

Rubella (Вирус краснухи)				
IgG		IgM	Интерпретация результата	Рекомендации
Ru.Cut off	Лизат	Лизат		
Положит.	Отриц.	Отриц.	Сeroотрицательный, нет иммунитета	Проводить мониторинг, повторить исследование через 4-6 недель.
Положит.	Отриц.	Положит.	Подозрение на отсутствие защитного иммунитета. Подозрение на первичную инфекцию	Дальнейшие действия: 1. Настоятельно рекомендуется проверить историю болезни пациента: а) Проведение вакцинации; б) Контакт с лицами, страдающими краснухой в острой фазе; в) Наличие конкретных симптомов краснухи. 2. Проводить контроль до 17-той недели беременности. 3. Подтверждение положительного результата IgM другим методом, например, в тест-системе «ИФА-Краснуха-IgM», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 06.01.
Положит.	Интенсивность полученного сигнала	Положит.	Подозрение на отсутствие защитного иммунитета. Подозрение на пер-	Дальнейшие действия: 1. Настоятельно рекомендуется проверить историю болезни пациента: а) Проведение вакцинации;

	нала рав-на или ниже уровня Ru.Cut off		вичную инфекцию	б) Контакт с лицами, страдающими краснухой в острой фазе; в) Наличие конкретных симптомов краснухи. 2. Проводить контроль до 17-той недели беременности. 3. Подтверждение положительного результата IgM другим методом, например, в тест-системе «ИФА-Краснуха-IgM», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 06.01. 4. Определения времени инфицирования, например, с помощью тест-систем «ИФА-Краснуха-IgG» и «ИФА-анти-Краснуха-IgG-авидность», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 06.02 и 06.03.
Положит.	Интенсивность полученного сигнала равна или ниже уровня Ru.Cut off	Отриц.	Подозрение на отсутствие защитного иммунитета.	Дальнейшие действия: 1. Проводить контроль до 17-той недели беременности. 2. При наличии клинических показаний; подозрении на низкий уровень IgM-антителообразования либо установления факта замедленного иммунного IgM ответа рекомендуется проведение дальнейших исследований.
Положит.	Интенсивность полученного сигнала выше уровня Ru.Cut off	Положит.	Предполагается наличие защитного иммунитета. Подозрение на недавнее инфицирование.	Дальнейшие действия: 1. Настоятельно рекомендуется проверить историю болезни пациента: а) Проведение вакцинации; б) Контакт с лицами, страдающими краснухой в острой фазе; в) Наличие конкретных симптомов краснухи; 2. Подтверждение положительного результата IgM другим методом, например, в тест-системе «ИФА-Краснуха-IgM», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 06.01. 3. Определения времени инфицирования, например, с помощью тест-систем «ИФА-Краснуха-IgG» и «ИФА-анти-Краснуха-IgG-авидность», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 06.02 и 06.03.
Положит.	Интенсивность полученного сигнала выше уровня Ru.Cut	Отриц.	Предполагается наличие защитного иммунитета. Подозрение на перенесенную инфекцию.	В целом нет необходимости в дальнейшей диагностике. Возможно определение времени инфицирования, например, с помощью тест-систем «ИФА-Краснуха-IgG» и «ИФА-анти-Краснуха-IgG-авидность», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 06.02 и 06.03.

	off			При наличии клинических показаний; подозрении на низкий уровень IgM-антителообразования либо установления факта замедленного иммунного IgM ответа рекомендуется проведение дальнейших исследований.
Отриц.	Положит. или Отриц.	Неопределенный	Невозможно установить диагноз	Результат теста недействителен. Настоятельно рекомендуется запросить повторный образец и повторить тест на другой серии тест-системы «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG» или на другой тест-системе.

Cytomegalovirus (ЦМВ)			
IgG	IgM	Интерпретация результата	Рекомендации
Рек.	Рек.		
Отриц.	Отриц.	Сeroотрицательный, нет иммунитета	Проводить мониторинг, повторить исследование через 4-6 недель.
Отриц.	Положит.	Подозрение на сероконверсию (первичная инфекция)	Дальнейшие действия: 1. Подтверждение положительного результата IgM другими методами, например, «ИФА-ЦМВ-IgM», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 07.01 и «ЦМВ-флюороген-IgM», «ЭКОлаб», кат.№ 07.04. 2. Повторное обследование через 10-14 дней.
Положит.	Положит.	Подозрение на недавнюю инфекцию	Дальнейшие действия: 1. Повторное обследование через 10-14 дней. А также (настоятельно рекомендуется проводить после 6-8 недель беременности). 2. Подтверждение положительного результата IgM другими методами, например, «ИФА-ЦМВ-IgM», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 07.01 и «ЦМВ-флюороген-IgM», «ЭКОлаб», кат.№ 07.04. Проведение теста на авидность для определения времени инфицирования, например, «ИФА-анти-ЦМВ-IgG-авидность», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 07.03.
Положит.	Отриц.	Подозрение на перенесенную инфекцию.	В целом нет необходимости в дальнейшей диагностике, однако, после 6-8 недель беременности

			настоятельно рекомендуются дополнительные исследования - проведение теста на авидность для определения времени инфицирования, например, «ИФА-анти-ЦМВ-IgG-авидность», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 07.03. При наличии клинических показаний; подозрении на низкий уровень IgM-антителообразования либо установления факта замедленного иммунного IgM ответа рекомендуется проведение дальнейших исследований.
Отриц.	Неопределенный	Невозможно установить диагноз	Нетипичный результат теста. Настоятельно рекомендуется запросить повторный образец или повторить тест на другой тест-системе.

Herpes Simplex Virus 1 (Вирус простого герпеса 1-го типа)			
IgG	IgM	Интерпретация результата	Рекомендации
gG1 рек.	gG1 рек.		
Отриц.	Отриц.	Сeroотрицательный, нет иммунитета	Проводить мониторинг, повторить исследование за 2-3 недели до родов.
Отриц.	Положит.	Позитивная реакция для ВПГ-1 IgM Подозрение на сероконверсию (первичная инфекция)	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения): подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или методом культивирования клеток; б) подтверждение положительного результата IgM провести другими методами; в) повторить исследование через 10 -14 дней.

Положит.	Положит.	Позитивная реакция для ВПГ-1 IgG и IgM. Подозрение на недавно перенесенную или реактивированную инфекцию	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения) подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или или методом культивирования клеток; б) подтверждение положительного результата IgM провести другими методами, например «ВПГ-1-Флюороген-IgM», кат.№ 08.06; в) подтверждение типа ВПГ, например «ИФА-ВПГ-1-IgG», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 08.02; «ВПГ-1-Флюороген-IgG», кат.№ 08.08; г) повторить исследование через 10 -14 дней.
Положит.	Отриц.	Позитивная реакция для ВПГ-1 IgG Подозрение на перенесенную инфекцию	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения) подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или или методом культивирования клеток; б) подтверждение типа ВПГ (например, «ИФА-ВПГ-1-IgG», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 08.02).
Отриц.	Неопределенный	Невозможно установить диагноз	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения) подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или или методом культивирования клеток; б) нетипичный результат теста. Настоятельно рекомендуется запросить повторный образец или повторить тест на другой тест-системе.

Herpes Simplex Virus 2 (Вирус простого герпеса 2-го типа)

IgG	IgM	Интерпретация результата	Рекомендации
gG2 рек.	gG2 рек.		
Отриц.	Отриц.	Сероотрицательный, нет иммунитета	Проводить мониторинг, повторить исследование за 2-3 недели до родов.

Отриц.	Положит.	Позитивная реакция для ВПГ-2 IgM Подозрение на серо-конверсию (первичная инфекция)	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения): подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или методом культивирования клеток; б) подтверждение положительного результата IgM провести другими методами; в) повторить исследование через 10 -14 дней.
Положит.	Положит.	Позитивная реакция для ВПГ-2 IgG и IgM Подозрение на недавно перенесенную или реактивированную инфекцию	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения) подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или методом культивирования клеток; б) подтверждение положительного результата IgM провести другими методами, например, «ВПГ-2-Флюороген-IgM», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 08.07; в) подтверждение типа ВПГ, например «ИФА-ВПГ-2-IgG» ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 08.03; «ВПГ-2-Флюороген-IgG», ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 08.07; г) повторить исследование через 10 -14 дней.
Положит.	Отриц.	Позитивная реакция для ВПГ-2 IgG Подозрение на перенесенную инфекцию	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения) подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или методом культивирования клеток; б) подтверждение типа ВПГ, например «ИФА-ВПГ-2-IgG» ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 08.03; «ВПГ-2-Флюороген-IgG» ЗАО «ЭКОлаб», кат.№ 08.07.

Отриц.	Неопределенный	Невозможно установить диагноз	Дальнейшие действия: а) в случае клинических симптомов (например, волдыри, поражения) подтверждение статуса инфекции методом ПЦР или методом культивирования клеток; б) нетипичный результат теста. Настоятельно рекомендуется запро- сить повторный образец или повто- рить тест на другой тест-системе.
--------	----------------	----------------------------------	--

Примечания по интерпретации результатов и существующим ограничениям теста

Данное исследование предназначено для скрининга беременных женщин или женщин, планирующих беременность с целью упрощения и своевременности установления диагноза и принятия необходимых мер для предотвращения тяжелых нарушений в развитии плода, которые могут привести к его гибели. Однако оно может также быть использовано как для проведения научных или статистических исследований (например, для определения инфицированности инфекциями TORCH-группы определенных групп населения), так и для определения иммунного статуса и времени инфицирования лицам, которым желательно проведение общего обследования по всем основным TORCH-инфекциям в соответствии с назначением врача.

Неоднозначные результаты испытаний также как и результаты испытаний, свидетельствующие об острой инфекции, должны быть подтверждены соответствующими тестами. Выбор диагностических методов, применяемых в дальнейшем, определяется в зависимости от клинических симптомов и результатов последующего контроля.

Как известно, иммунный ответ человека на инфицирование может сильно варьировать. Тот факт, что во многих случаях специфические IgM обнаруживаются в течение многих лет после первичной инфекции, затрудняет интерпретацию серологических результатов.

Для правильной интерпретации результатов испытаний, особенно при получении слабоположительных результатов, результаты IgG теста всегда следует рассматривать в сочетании с результатами IgM теста с одновременным включением всех клинических данных и доступных записей о прежних заболеваниях пациента. Рекомендуется тесное сотрудничество между лабораторией и лечащим врачом. Настоятельно рекомендуется подтверждение неясных или противоречивых результатов теста в какой-либо другой тест-системе.

Как и в других серологических реакциях, отрицательные результаты испытаний не исключают диагноза токсоплазмоза, цитомегаловирусной инфекции, краснухи или заболевания простым герпесом. Время, необходимое для сероконверсии после первичного инфицирования может

баться в зависимости от индивидуальных особенностей иммунной системы каждого человека; ответственно может варьировать и время, необходимое для появления обнаруживаемых анти-
д. При необходимости, тест следует повторить через 4 - 12 недель либо проверить тот же обра-
зец другим методом анализа.

Для беременных женщин с отрицательными результатами испытаний для *Toxoplasma gondii*, вируса краснухи, и ЦМВ, проведение повторного анализа через определенный промежуток времени обязательно. Для ВПГ, новый образец сыворотки проверяется повторно за 2 - 3 недели до родов.

Использование термически обработанных, желтушных, гемолитических, липиемических или мутных образцов не рекомендуется.

Образцы с микробной контаминацией не допускаются к проведению анализа.

Результаты анализа могут зависеть от наличия аутоиммунных антител (например ANA / ЕСА) или ревматоидного фактора (РФ) в образце. Кроме того, неспецифическая IgM реактивность может проявиться из-за перекрестной реактивности с антителами других вирусов группы герпеса или из-за неспецифической поликлональной стимуляции В-лимфоцитов, вызванной первичной инфекцией или реактивацией вируса (например, вирусами Эпштейна-Барра, ЦМВ, Парвовируса В19).

Темные тест-полоски: При анализе сывороток некоторых пациентов может произойти темное, непрерывное или узорное окрашивание всего стрипа (например, при анализе образцов от пациентов с аллергией молочного белка). Причины такого эффекта могут быть различными. Проводить оценку результатов таких полос, как правило, возможно только в очень ограниченном смысле. Соответствующий образец в любом случае должен быть проверен с помощью других методов анализа.

Постановка с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты хранить в плотно закрытой упаковке при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

По вопросам, касающимся качества набора "Лайн-Блот TORCH -профиль", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по науке

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

29.07.2016г



С.Г. Марданлы

П.К. Варнавичус

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ "Лайн-Блот TORCH-профиль"

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией

Внести	в канавки ванночки по одному стрипу для каждого исследуемого образца; в каждую канавку – по 1 мл РРО
Инкубация	3-5 мин, 18-25 °С, на шейкере
Внести	Комплект №1 – "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG" по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки или плазмы либо по 40 мкл образцов СМЖ (отдельно) Комплект №2 – "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM" по 40 мкл супернатанта для образца сыворотки или плазмы крови; либо по 80 мкл супернатанта для образца СМЖ (отдельно)
Инкубация	2 ч, 18-25 °С, на шейкере
Промыть	4 раза ПР (1+3 раза по 5 мин.)
Внести	в каждую канавку по 1,0 мл конъюгата
Инкубация	30 мин для образцов сыворотки или плазмы либо 45 мин для образцов СМЖ, 18-25 °С, на шейкере
Промыть	4 раза ПР (1+3 раза по 5 мин.)
Внести	в каждую канавку по 1,0 мл СР
Инкубация	15 мин, 18-25 °С, на шейкере в темноте
Промыть	4 раза водой очищенной по 1 мин.
Высушить стрипы между листов фильтровальной бумаги и зарегистрировать результаты	

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 21 ЛИСТОВ
«29» 07 2016 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ – МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус _____

