



ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ
ДІАГНОСТИЧНІ СИСТЕМИ УКРАЇНА

REF

T-151



96

І Н С Т Р У К Ц І Я
по застосуванню набору реагентів
«ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-G»
Тест-система імуноферментна для якісного та кількісного
визначення антитіл класу IgG к *Toxoplasma gondii*,
набір діагностичний

Зміст

I.	ПРИЗНАЧЕННЯ	3
II.	СКЛАД НАБОРУ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-G»	3
III.	ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	4
IV.	ІНСТРУКЦІЇ З БЕЗПЕКИ	4
V.	НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ НАДАЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ	5
VI.	ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ	5
VII.	ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ	5
VIII.	ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ	6
IX.	РЕЗУЛЬТАТИ	7
X.	ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ.....	8
XI.	ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ	8

Набір реагентів випускається в 1 комплекті.

Набір розрахований на проведення 96 (один розбірний планшет) визначень, включаючи контрольні, з можливістю дрібного (по одному стрипу) використання набору.

I. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-G» призначений для якісного і кількісного визначення антитіл класу IgG до *Toxoplasma gondii* в сироватці (плазмі) крові людини з метою специфічної діагностики інфекції та прогнозу захворювання.

II. СКЛАД НАБОРУ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-G»

Характеристики реагентів	Форма випуску
Імуносорбент - планшет полістироловий 96-лунковий розбірний з прозорими безбарвними лунками з сорбованим токсоплазменним антигеном.	1 шт
Кон'югат (концентрат x 11), рідкий - моноклональні антитіла миші до імуноглобуліну G людини, кон'юговані з пероксидазою хрому. Прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина.	1 флакон 1,5 мл
БР - блок-розчин для розведення досліджуваних зразків. Прозора рідина фіолетово-синього кольору, допустимо утворення осаду, при струшуванні розпадається і приводить до помутніння розчину.	1 флакон 12,5 мл
РРК - розчин для розведення кон'югату. Прозора або злегка опалесцююча жовтого або світло-жовтого кольору рідина, допустимо утворення аморфного осаду, при струшуванні розпадається і приводить до помутніння розчину.	1 флакон 12,5 мл
К+ (Контрольний позитивний зразок), рідкий - сироватка крові людини, що містить антитіла класу IgG до <i>Toxoplasma gondii</i> і не містить антиген вірусу гепатиту В (HBsAg), антиген р24 ВІЛ-1, антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована. Прозора або злегка опалесцююча малиново-червоного кольору рідина.	1 флакон 1,5 мл
К- (Контрольний негативний зразок), рідкий - сироватка крові людини, яка не містить антитіла класу IgG до <i>Toxoplasma gondii</i> і не містить антиген вірусу гепатиту В (HBsAg), антиген р24 ВІЛ-1, антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована. Прозора або злегка опалесцююча зеленого кольору рідина.	1 флакон 1,5 мл
Калібратор, ліофілізований - сироватка крові людини, що містить антитіла класу IgG до <i>Toxoplasma gondii</i> , в концентрації $125 \pm 2,5$ МЕ/мл, яка не містить антиген вірусу гепатиту В (HBsAg), антиген р24 ВІЛ-1, антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована. Суха, пориста аморфна маса білого кольору, гігроскопічна.	4 флакона
ПР (концентрат x 25) - розчин для промивання. Прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина, допустимо утворення осаду, повністю розчиняється при температурі від 35 до 39 ° С і струшуванні.	1 флакон 50,0 мл
СБ - субстратний буферний розчин. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 15,0 мл
ТМБ-хромоген - розчин, що містить 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 1,5 мл
Стоп-реагент - розчин сірчаної кислоти 0,75 моль / л. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 25,0 мл

Реагенти поміщають в коробку картонну або пакет поліетиленовий, куди вкладають інструкцію із застосування.

Додатково набір може бути укомплектований	Кришка до полістиролових 96-лункових планшетів або захисна плівка для ІФА планшетів	1 шт
	Одноразові наконечники	16 шт
	Пластикова ванночка для рідких реагентів	2 шт
	Пластикова скріпка для закривання пакета з імуносорбентом або пакет поліетиленовий з замком Zip-Lock	1 шт


III ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Достовірність результатів залежить від правильного виконання наступних правил лабораторної практики:

- Постановку ІФА слід проводити в приміщенні з температурою від 18 до 24 ° С.
- Не можна використовувати реагенти з вичерпаним терміном придатності.
- Не можна використовувати реагенти з наборів різних серій і змішувати їх в процесі приготування розчинів.
- Перед використанням всі реагенти витримати при температурі від 18 до 24 ° С протягом 30 хв.
- Робочі розчини готувати обережно, виключаючи будь-яке забруднення.
- Не можна проводити тест в присутності реактивних парів (кислота, луг, альдегіди) або пилу, які можуть вплинути на ферментативну активність кон'югата.
- Лабораторний посуд повинен бути ретельно промитий; рекомендоване застосування матеріалів одноразового використання.
- Перед використанням пластикові ванночки для рідких реагентів обполоснути водою дистильованою. Багаторазові ванночки для автоматичних аналізаторів необхідно відразу після роботи обполоснути водою дистильованою. Потім промити 70% розчином етилового спирту і знову обполоснути водою дистильованою.
- Імуносорбент допускається зберігати в проміжках між окремими операціями не більше 10 хв (не можна допускати висихання лунок планшета).
- Ферментативна реакція особливо чутлива до іонів металів. Не можна допускати контакту металевих предметів з розчинами кон'югату або субстрату.
- Необхідно використовувати чистий наконечник для кожного зразка або реагенту.
- Промивання лунок - важливий етап в даній процедурі: необхідно дотримуватися рекомендовану кількість циклів промивки і переконатися, що лунки повністю заповнені, не допускати залишку рідини в лунках після промивання. Неправильно проведений етап промивання може привести до неточних результатів.
- Не можна використовувати одну і ту ж ємність для приготування кон'югату і розчинів.
- Необхідно використовувати тільки валідовані піпетки та обладнання.
- Не можна змінювати процедуру проведення аналізу.
- Необхідно використовувати воду дистильовану.
- Уникайте потрапляння на реагенти впливу високої температури або прямого сонячного світла.

IV ІНСТРУКЦІЯ З БЕЗПЕКИ

- Всі реагенти набору призначені для лабораторної діагностики "in vitro". Потенційний ризик застосування набору - перелік В.
- Сироватки (плазми) крові людини, які використовуються при приготуванні контрольного негативного зразка (К-), що не містять антитіла класу IgG до *Toxoplasma gondii*, були протестовані і визначені нереактивні щодо поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAg), антигену р24 ВІЛ-1, антитіл до вірусу гепатиту С і антитіл до ВІЛ-1 і ВІЛ-2.
- Сироватки (плазми) крові людини, які використовуються при приготуванні контрольного позитивного зразка (К+) і калібратора, що містять антитіла класу IgG до *Toxoplasma gondii*, були протестовані і визначені нереактивні щодо поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAg), антигену р24 ВІЛ-1, антитіл до вірусу гепатиту С і антитіл до ВІЛ-1 і ВІЛ-2.
- При роботі з реагентами набору (К-, К+, калібратором) і досліджуваними зразками потрібно поводитися як з потенційно небезпечними матеріалами, тому що жоден відомий метод тестування не може гарантувати відсутність інфекційних агентів.
- У приміщенні з імунодіагностичними матеріалами не можна вживати їжу, пити, палити, застосовувати косметику
- Не можна піпетувати ротом.
- При роботі з будь-яким обладнанням, яке контактує з досліджуваними зразками, потрібно поводитися як з потенційно небезпечними матеріалами.
- При роботі з набором реагентів і досліджуваними зразками необхідно використовувати спецодяг та одноразові рукавички, ретельно промивати руки після роботи з ними.

- Уникайте розплескування зразків або розчинів, що містять зразки. При розплескуванні негайно дезинфікуйте поверхню 3% розчином хлораміну Б.
- Уникайте контакту субстратного буфера, хромогену, стоп-реагенту зі шкірою та слизовими.
- Після проведення ферментативної реакції необхідно нейтралізувати і/або автоклавувати розчини, відходи або будь-які рідини, що містять біологічні зразки, до скидання в каналізаційну трубу. Тверді відходи (використані планшети, наконечники до дозаторів, флакони, лабораторний посуд, одноразові рукавички і т.д.) повинні бути знезаражені зануренням в 6% розчин перекису водню з 0,5% синтетичного миючого засобу або в 3% розчин хлораміну Б. Тривалість дезактивації - не менше 1 год. Можливе застосування іншого дозволеного до застосування дез.засобу. Тверді відходи також слід знешкоджувати автоклавуванням протягом години при температурі від 124 до 128 °С під тиском 1,5 кГс/см² (0,15 МПа). Рідкі відходи (промивні води) слід знезаражувати додаванням сухого хлораміну Б з розрахунку 30 г/л (тривалість дезактивації - не менше 2 год) або кип'ятінням протягом 30 хв, або в автоклаві протягом 1 год під тиском 1,5 кГс/см² (0, 15 МПа) при температурі від 124 до 128 ° С. Інструменти і обладнанням до і після роботи необхідно протирати 2 рази 70% етиловим спиртом.
- ^{xi} Деякі реагенти містять 0,05% Проклін 300. Проклін 300 0,05% - подразнююча речовина. Може викликати алергічну реакцію при контакті зі шкірою. При контакті зі шкірою промийте область контакту великою кількістю мила і води.

V. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ НАДАЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ

- Спектрофотометр вертикального сканування, що дозволяє проводити вимірювання з налаштуванням «по повітрю».
- Піпетки змінного обсягу (одно- і багатоканальні).
- Наконечники одноразові для піпеток змінного об'єму.
- Термостат (37,0 ± 0,5) ° С.
- Пристрій для промивання планшетів (вошер)
- Вода дистильована.
- Папір фільтрувальний лабораторний.
- Рукавички медичні.

VI. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Збір зразків крові повинен проводитися відповідно до поточної практики. Для досліджуваних зразків можуть бути використані сироватка (плазма) крові людини. Для запобігання хибних результатів не можна піддавати досліджувані зразки термоінактивації, необхідно відбирати і зберігати їх в умовах, що запобігають бактеріальному зростанню. **Кожен зразок сироватки слід відбирати новим наконечником!** Відібрані зразки зберігати не більше 3 діб при температурі від 2 до 8 ° С. Більш тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 20 ° С (зразки можуть піддаватися замерзанню відтавання не більше 1 разу). Сироватку від еритроцитів або плазму від згустку слід відокремити якнайшвидше, щоб уникнути гемолізу. Гемоліз може вплинути на робочі характеристики тесту. Дослідження зразків з вираженим бактеріальним ростом, гемолізом і гіперліпемією не допускається, тому що може дати неправильний результат. Зразки сироватки (плазми) крові, що містять агрегати або осад, необхідно освітлювати центрифугуванням.

VII. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. Реагенти готові до застосування:

- **К-** – контрольний негативний зразок.
- **К+** – контрольний позитивний зразок.
- **РРК** – розчин для розведення кон'югату.
- **БР** – блок-розчин для робочого розведення сироваток.
- **СБ** – субстратний буферний розчин.
- **Стоп-реагент.**

2. Реагенти, що вимагають попереднього приготування

Обсяги реагентів для проведення аналізу на необхідній кількості стрипів або на цілому планшеті наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Витрата реагентів набору в залежності від кількості використовуваних стрипів

Кількість використовуваних стрипів		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Робочий ПР	ПР (x 25) (мл)	4,0	8,0	12,0	16,0	20,0	24,0	28,0	32,0	36,0	40,0	44,0	50,0
	Вода дистильована (мл)	96,0	192,0	288,0	384,0	480,0	576,0	672,0	768,0	864,0	960,0	1056,0	1200,0
Робочий розчин кон'югату	Кон'югат (конц. x 11) (мл)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	РРК, (мл)	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
СС	ТМБ (мл)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	СБ (мл)	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

- **Імуносорбент.** Кожен планшет, що містить 12 стрипів, упакований в фольгований пакет. Розкрити пакет і вийняти планшет. Взяти потрібну кількість стрипів. Невикористані стрипи без рамки помістити назад в пакет. Після розкриття пакету імуносорбент стабільний протягом 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С, за умови, що пакет герметично закритий з допомогою поліетиленового пакета з замком Zip-Lock або за допомогою скріпки. Силікагель видаляти з пакета не можна.
- **Робочий розчин для промивання (ПР).** Вміст флакона з концентратом (x 25) для промивання ретельно перемішати. Для приготування робочого розчину для промивання необхідний обсяг концентрату (x 25) для промивання розвести відповідним обсягом води очищеної (см. табл. 1). Отриманий розчин ретельно перемішати. Виготовлений робочий промивний розчин стабільний протягом 3 діб у разі зберігання при температурі від 2 до 8 °С.
- **Калібратор** – готувати перед використанням. У флакон додати вказаний на етикетці обсяг води дистильованої і ретельно перемішати до повного розчинення. Перед використанням витримати 15 хв. Після відкриття флакона залишився невикористаним розведений калібратор стабільний протягом 2 міс. При температурі від 2 до 8 °С.
- **Робочий розчин кон'югату.** Готувати перед використанням. Для приготування робочого розчину кон'югату необхідний обсяг концентрату (x 11) розвести відповідним обсягом РРК (см. табл. 1). Отриманий розчин обережно перемішати, не допускаючи спінювання (*інтенсивне перемішування не застосовувати!*). Робочий розчин кон'югату стабільний не більше 12 год. в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.
- **Субстратна суміш (СС).** Готувати перед використанням. Необхідний обсяг ТМБ розвести відповідним обсягом СБ (см. табл. 1), ретельно перемішати до повного розчинення. Припустимо зберігати СС не більше 10 год. в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.

Субстратна суміш повинна бути безбарвною!

3. Зберігання невикористаних реагентів.

Після відкриття флаконів, реагенти які залишилися невикористаними допускається зберігати: ПР (концентрат x 25), К +, К-, РРК, кон'югат (концентрат x 11), БР, СБ, ТМБ, стоп-реагент - у флаконах, закритих гвинтовими кришками, протягом терміну придатності тест-системи при температурі від 2 до 8 °С; імуносорбент після розкриття пакета - протягом 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С.

VIII. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Примітка: Перед використанням всі реагенти набору витримати протягом 30 хв при температурі від 18 до 24 °С.

Проведення ІФА.

1. Розкрити фольгований пакет з імуносорбентом, відступивши 1,0 см від краю пакета. Вийняти з пакета рамку і необхідну кількість стрипів. Пакет з невикористаними стрипами і

силікагелем ретельно герметизувати. Для цього помістити розкритий пакет з імуносорбентом в поліетиленовий пакет з замком Zip-Lock або край фольгованого пакета згорнути 2-3 рази і закріпити, надівши зверху скріпку для фольгованого пакета. Після першого розкриття пакета імуносорбент стабільний протягом 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С.

2. Перед використанням імуносорбент промити 2 рази ПР, обережно заливаючи його за допомогою промивного пристрою або багатоканальної піпетки до країв лунок (не менше 380 мкл в лунку), витримуючи 40 сек і видаляючи розчин для промивання в ємкість для збору інфікованого матеріалу.

3. При внесенні контрольних зразків в залежності від кількості використовуваних стрипів рекомендується наступна схема:

1 стрип – 1 лунка К+, 1 лунка К- і 1 лунка Калібратора;

2 стрипи і більше – 1 лунка К+, 2 лунки К- і 2 лунки Калібратора.

Наприклад, при постановці ІФА на двох стрипах: в лунку стрипа А-1 піпеткою змінного обсягу внести 100 мкл К+, в 2 лунки В-1 і С-1 – по 100 мкл К-, в 2 лунки D-1 і E-1 – по 100 мкл Калібратора. В інші лунки внести по 90 мкл БР і по 10 мкл зразків досліджуваних сироваток (кінцеве розведення сироваток в лунках 1:10). Вміст лунок ретельно перемішати обережним піпетуванням. Планшет закрити кришкою або захисною плівкою і витримати в термостаті 30 хв. при температурі $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

4. Вміст лунок видалити в ємність для збору інфікованого матеріалу (акуратно, за допомогою промивного пристрою або багатоканальної піпетки) і планшет промити 6 разів ПР як в п.2.

5. У всі лунки планшета внести по 100 мкл кон'югату в робочому розведенні. Планшет закрити кришкою або захисною плівкою і витримати в термостаті 30 хв. при температурі $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

6. Вміст лунок видалити в ємність для збору інфікованого матеріалу і планшет промити 6 разів робочим розчином ПР, як в п. 2.

7. У всі лунки планшета внести по 100 мкл СС і витримати 20 хв. в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.

8. Реакцію зупинити додаванням в усі лунки по 50 мкл стоп-реагенту і провести облік результатів.

ІХ. РЕЗУЛЬТАТИ

Облік результатів провести спектрофотометрично при двох довжинах хвиль - 450 нм і при референс-довжині хвилі в діапазоні від 620 до 680 нм з налаштуванням приладу по «повітру». Реакцію враховують, якщо значення оптичної густини (ОП) у лунці з К + становить не менше 0,6, середнє значення ОП Калібратора - не менше 0,7, середнє значення ОП К- не більше 0,2.

Можливий облік результатів при одній довжині хвилі - 450 нм, при цьому реакцію враховують, якщо значення ОП в лунці з К + становить не менше 0,640, середнє значення ОП Калібратора - не менше 0,740, середнє значення ОП К- не більше 0,240.

1. При якісному обліку результатів - позитивним вважати зразок зі значенням ОП, що перевищує ОП критичне (ОП крит.).

ОП крит. розраховувати за формулою:

$$\text{ОП крит.} = \text{ср. знач. ОП Калібратора} / \text{А} \quad (1),$$

де А – коефіцієнт, який визначається методом статистичної обробки результатів постановки ІФА на підприємстві-виробнику, величину якого вказують в робочій інструкції та паспорті на серію даного препарату*.

Якщо значення ОП досліджуваного зразка перевищує 0,8 x ОП крит., але менше значення 1,2xОП крит., то цей зразок слід вважати невизначеним.

* «Для серії 067 ХХХ величина коефіцієнта А = 5»

2. При кількісній оцінці результатів розрахунок концентрації (С) АНТИ-ТОКСО-IgG в досліджуваному зразку виконувати за такою формулою:

$$C \text{ (МЕ/мл)} = \text{ОП проби} \times 125 / \text{ср. знач. ОП Калібратора} \quad (2),$$

де ОП проби - значення оптичної густини досліджуваного зразка;
125 - вміст АНТИ-ТОКСО-IgG в Калібраторі (в МЕ/мл).

Якщо значення ОП досліджуваного зразка перевищує 2,000, то слід виміряти ОП зразка при двох інших довжинах хвиль: 405 і 620-680 нм з налаштуванням приладу «по повітрю». Якщо при цих довжинах хвиль ОП зразка не перевищує 1,200, розрахунок концентрації проводити за такою формулою:

$$C \text{ (МЕ/мл)} = \text{ОП проби} \times 125 \times 3,2 / \text{ср. знач.ОП Калібратора} \quad (3),$$

де ОП проби - значення оптичної густини досліджуваної сироватки при 405 і 620-680 нм;

3,2 - коефіцієнт перерахунку ОП при 405 і 620-680 нм в ОП при 450 і 620-680 нм.

Якщо значення ОП, отримане при вимірюванні зразка при довжинах хвиль 405 і 620-680 нм, перевищує 1,200, або якщо пристрій не укомплектований фільтром 405 нм, то аналіз слід повторити. При повторному проведенні аналізу досліджуваній зразок необхідно розвести в 4 і більше разів при необхідності робочим розчином ПР і аналізувати як цілісний зразок. Розрахунок концентрації АНТИ-ТОКСО-IgG проводити, враховуючи фактор розведення.

* Значення ОП К- і досліджуваних зразків сироваток нижче 0,00 (зі знаком «-») при розрахунках ОПкр. і аналізі результатів вважати рівними нулю.

X. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ






Термін придатності зазначено на упаковці. Набір з вичерпаним терміном придатності використанню не підлягає.

Зберігання - в сухому, захищеному від світла місці при температурі від 2 до 8 ° С.

Транспортування - при температурі від 2 до 8 ° С. Припустимо транспортування від 9 до 20 ° С і не більше 10 діб. Заморожування не допускається.

Рекламації на специфічні і фізичні властивості набору направляти на адресу підприємства-виробника ТОВ «Діагностичні системи Україна», Україна, 04107, м. Київ, вул. Багговутівська, б. 8/10, тел. 044 361 55 76 E-mail: ua@npods.ru.

XI. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ

	Тільки для лабораторного використання		Температурні межі зберігання
	Код партії (номер серії)		Термін придатності дата / місяць / рік
	Містить подразнюючу речовину		Використовуйте інструкцію по застосуванню
 UA.TR.116	Знак відповідності		«Увага»;
	Не допускати впливу сонячного світла		Берегти від вологи