



REF

T-1153



96

**І Н С Т Р У К Ц І Я**  
**по застосуванню набору реагентів**  
**«ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-М (capture)»**  
**Тест-система імуоферментна для виявлення**  
**антитіл класу IgM до Toxoplasma gondii**

**З М І С Т**

I. ПРИЗНАЧЕННЯ .....	2
II. СКЛАД НАБОРУ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-М (capture)» .....	2
III. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ .....	3
IV. ІНСТРУКЦІЇ З БЕЗПЕКИ.....	3
V. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ.....	4
VI. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ.....	4
VII. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ.....	5
VIII. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.....	5
IX. ПРОВЕДЕННЯ ІФА В АВТОМАТИЧНОМУ РЕЖИМІ .....	7
X. РЕЗУЛЬТАТИ.....	7
XI. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ.....	8
IX. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.....	8

**Набір реагентів випускається в одному комплекті.**

Набір розрахований на проведення 96 (один розбірний планшет) визначень, включаючи контрольні, призначений для ручної постановки з можливістю дробового (по одному стрипу) використання набору або для одночасної постановки 96 визначень на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу.

**I. ПРИЗНАЧЕННЯ**

Набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-М (capture)» призначений для виявлення антитіл класу IgM до *Toxoplasma gondii* в сироватці (плазмі) крові людини методом імуноферментного аналізу (варіант «capture»).

**II. СКЛАД НАБОРУ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ТОКСО-М (capture)»**

Таблиця 1

Характеристики реагентів	Форма випуску
Імуносорбент - планшет полістироловий 96-лунковий розбірний з прозорими безбарвними лунками, в яких сорбовані моноклональні антитіла до IgM людини.	1 планшет
Кон'югат (концентрат x 51), рідкий - антиген <i>Toxoplasma gondii</i> , мічений пероксидазою хрому. Злегка опалесцююча жовтого кольору рідина.	1 флакон 0,3 мл
К+ (контрольний позитивний зразок), рідкий - сироватка крові людини, що містить антитіла класу IgM до <i>Toxoplasma gondii</i> , що не містить HBsAg, 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 IgM до <i>Toxoplasma gondii</i> , що не містить HBsAg, антитіла до ВІЛ-1,2 і вірусу гепатиту С, інактивована. Прозора або злегка опалесцююча зеленого кольору рідина.	1 флакон 3,0 мл
РРС (розчин для попереднього розведення сироваток) - прозора синьо-фіолетового кольору рідина.	1 флакон 12,5 мл
БР (блок- розчин) - прозора рожевого кольору рідина.	1 флакон 12,5 мл
РРК (розчин для розведення кон'югату) - злегка опалесцююча жовтого кольору рідина.	1 флакон 12,5 мл
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
ТМБ - Субстратний розчин, готовий до застосування, рідкий. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 12,0 мл
<b>або</b> СБ - субстратний буферний розчин, що містить лимонну кислоту, ацетат натрію, розчин водню перекису, рН 4,2. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 15,0 мл
Хромоген ТМБ - розчин, що містить 3,3',5,5'- тетраметилбензидин Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 1,5 мл
Стоп-реагент - розчин сірчаної кислоти 0,2 моль / л. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 25,0 мл
Планшет для попереднього розведення сироваток - планшет полістироловий 96-лунковий розбірний імунологічний з прозорими безбарвними лунками	1 шт.

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'югатів.
- 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'югатів або субстратів.
- Необхідно використовувати новий наконечник для кожного зразка.
- 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 і обладнання.
- Не можна змінювати процедуру проведення аналізу.
- Необхідно використовувати воду дистильовану.
- Уникайте потрапляння на реагенти впливу тепла або світла під час інкубації і зберігання.

### IV. ІНСТРУКЦІЇ З БЕЗПЕКИ.


- Всі реагенти набору призначені для діагностики "in vitro". Потенційний ризик застосування набору - перелік В.
- Сироватки (плазми) крові людини, які використовуються при приготуванні негативного контрольного зразка, позитивного контрольного зразка були протестовані і визначені нереактивні щодо поверхневого антигену гепатиту В (HBsAg), антигену р24 ВІЛ-1 і антитіл до гепатиту С і ВІЛ-1,2.
- При роботі з 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, користуватися косметикою.
- Не можна піпетувати ротом.
- При роботі з набором реагентів з будь-яким обладнанням, яке контактує з досліджуваними зразками, реагентами, промивальним розчинами потрібно поводитись як з

потенційно небезпечними матеріалами.

- При роботі з набором реагентів і досліджуваними зразками необхідно використовувати спец. одяг і одноразові рукавички, ретельно промивати руки після роботи з ними.
- Необхідно уникати розплескування зразків або розчинів, що містять зразки. При розплескуванні негайно дезактивувати поверхню 3% розчином хлораміну Б.
- Необхідно уникати 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 стічну 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 (СМС) 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 / см<sup>2</sup> (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 / см<sup>2</sup> (0,15 МПа) при температурі від 124 до 128 °С. Інструменти і обладнання до і після роботи необхідно протирати 2 рази 70% етиловим спиртом.

ProClin™300



-  xi Деякі реагенти містять 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 ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ.

- Спектрофотометр вертикального сканування, що дозволяє вимірювати оптичну густина розчину в лунках планшета при довжинах хвиль 450 нм, 620-680 нм.
- Піпетки змінного обсягу (одно- і багатоканальні).
- Наконечники одноразові для піпеток змінного об'єму.
- Інкубатор мікропланшетний (37,0 ± 0,5) °С.
- Пристрій для промивання планшетів (вошер).
- Градуйовані циліндри: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.
- Автоматичний аналізатор для імуноферментного аналізу відкритого типу.
- Вода дистильована.
- Папір фільтрувальний лабораторний.
- Рукавички медичні.

## VI. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ.

Збір зразків крові повинен проводитися відповідно до поточної практики. У якості 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 досліджуваної 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 замерзання відтавання не більше 1 рази). Дослідження зразків з вираженим бактеріальним ростом, гемолізом і гіперліпідемією 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.
- РРС – розчин для попереднього розведення сироваток.
- БР - блок-розчин для робочого розведення сироваток.
- Стоп-реагент.

### **2. Реагенти, що вимагають попереднього приготування.**

- **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 пакета імуносорбент стабільний протягом 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С, за умови, що пакет герметично закритий за допомогою поліетиленового пакета з замком Zip-Lock або за допомогою скріпки. Не допускається видаляти силікагель з пакета.
- **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 дистильованої (див. табл. 2 і 3). Отриманий розчин ретельно перемішати. Приготований робочий промивний розчин стабільний протягом 3 діб у разі зберігання при температурі від 2 до 8 °С.
- **Робочий розчин кон'югату.** Готувати перед використанням. Для приготування робочого розчину кон'югату необхідний обсяг концентрату (x 51) кон'югату розвести відповідним обсягом РРК (див. табл. 2 і 3). Отриманий розчин обережно перемішати, не допускаючи спінювання (*інтенсивне перемішування не застосовувати!*). Робочий розчин кон'югату стабільний не більше 6 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 (див. табл. 2 і 3), ретельно перемішати до повного розчинення. Припустимо зберігання СС не більше 10 год в захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С в хімічно чистих флаконах або спеціальної ємності, призначеної для постановки ІФА на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу.

**Субстратна суміш повинна бути безбарвною!**

**При комплектації набору ТМБ-Субстратним розчином, готовим до застосування, перед використанням реагент ретельно перемішати.**

### **3. Зберігання невикористаних реагентів.**

Після відкриття флаконів, що залишилися невикористаними реагенти набору: К +, К-, кон'югат (концентрат x 51), РРС, РРК, БР, ПР (концентрат x 25), СБ, ТМБ або ТМБ - Субстратний розчин, стоп-реагент зберігати 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.**

Необхідні обсяги реагентів в залежності від кількості використовуваних стрипів або планшета представлені в таблиці 2:

**Витрата реагентів набору в залежності від кількості використовуваних стрипів при ручному постановці ІФА**

Кількість використовуваних стрипів	Робочий розчин для промивання (ПР)		Робочий розчин кон'югату		СС	
	ПР (конц x 25) (мл)	Вода дистильована (мл)	Кон'югат (конц x 51) (мкл)	РРК (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
1	2,0	48,0	20	1	0,1	1,0
2	4,0	96,0	40	2	0,2	2,0
3	6,0	144,0	60	3	0,3	3,0
4	8,0	192,0	80	4	0,4	4,0
5	10,0	240,0	100	5	0,5	5,0
6	12,0	288,0	120	6	0,6	6,0
7	14,0	336,0	140	7	0,7	7,0
8	16,0	384,0	160	8	0,8	8,0
9	18,0	432,0	180	9	0,9	9,0
10	20,0	480,0	200	10	1,0	10,0
11	22,0	528,0	220	11	1,1	11,0
12	24,0	576,0	240	12	1,2	12,0

**Проведення ІФА.**

**1.** Розкрити фольгований пакет з імуносорбент, 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 пакета з імуносорбентом згорнути 2-3 рази і закріпити, надівши зверху скріпку для фольгованого пакета.

Після першого розкриття пакет з імуносорбентом стабільний протягом 1 міс. при температурі від 2 до 8 °С.

**2.** Зразки сироваток розвести в 10 разів розчином для попереднього розведення сироваток. Для цього в лунки планшета для попереднього розведення внести по 90 мкл РРС і по 10 мкл сироваток і ретельно перемішати обережним піпетуванням. При цьому фіолетово-синій колір повинен змінитися на блакитно-зелений. Якщо колір розчину в лунці не змінився, то сироватка не була внесена. Розлучені сироватки не зберігати!

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

- 1 стрип – 1 лунка К+ і 2 лунки К-
- 2 стрипа – 1 лунка К+ і 3 лунки К-
- 3 і більше – 2 лунки К+ і 3 лунки К-

Наприклад, при постановці ІФА на цілому планшеті, в лунки стрипа А-1 і В-1 піпеткою змінного обсягу внести по 100 мкл К +, в 3 лунки С-1, D-1 і Е-1 - по 100 мкл К-. В інші лунки імуносорбенту внести по 90 мкл БР і по 10 мкл попередньо розведених у 10 разів зразків досліджуваних сироваток (кінцеве розведення сироваток 1: 100). Вміст лунок перемішати обережним піпетуванням. Планшет закрити кришкою або захисною плівкою і витримати в термостаті протягом 30 хв при температурі (37,0±0,5) °С.

**4.** Після закінчення зазначеного часу вміст лунок видалити в ємність для збору інфікованого матеріалу (акуратно, за допомогою вошера або багатоканальної піпетки) і планшет промити 4 рази робочим ПР, заливаючи його до країв лунок (від 380 до 400 мкл в лунку), витримуючи 40 сек і видаляючи розчин для промивання в ємність для збору інфікованого матеріалу.

**5.** У всі лунки планшета внести по 100 мкл робочого розчину кон'югату і покрити кришкою або захисною плівкою планшет витримати в термостаті 60 хв при температурі (37,0 ± 0,5) °С, після чого планшет промити 5 разів, як зазначено в п. 4 .

**6. УВАГА!** Залежно від комплектації набору можливі два варіанти подальшого проведення аналізу.

**1 варіант. При комплектації набору ТМБ - субстратним розчином, готовим до застосування.**

У всі лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ - субстратного розчину і витримати 20 хв при температурі від 18 до 24 С в захищеному від світла місці.

**2 варіант. При комплектації набору ТМБ і Субстратним Буфером (СБ). Приготування Субстратної Суміші (СС), (див. Розділ VII Підготовка реагентів. п. 2 Реагенти, що вимагають попереднього приготування).**

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

7. Реакцію зупинити додаванням до всіх лунок по 150 мкл стоп-реагенту і через 3-4 хв. провести облік результатів.

## ІХ. ПРОВЕДЕННЯ ІФА В АВТОМАТИЧНОМУ РЕЖИМІ.

При постановці тест-системи на автоматичному ІФА - аналізаторі коректний викладеної вище, п. VII. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

Протоколи для постановки та обрахунку результатів тест-системи Ви можете отримати в ТОВ «Діагностичні системи Україна».

Таблиця 3

### Витрата реагентів тест-системи на один планшет при постановці ІФА на автоматичних аналізаторах для імуноферментного аналізу відкритого типу

Кількість використуван их стрипів	Робочий розчин для промивання		Робочий розчин кон'югату		Субстратна суміш	
	ПР (конц. х25) (мл)	Вода дистильована (мл)	Кон'югат (конц. х 51) (мкл)	РРК (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
12 (цілий планшет)	24,0	576,0	240,0	12,0	1,20	12,0

## Х. 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». Припустимо облік результатів при одній довжині хвилі - 450 нм.

Реакцію враховувати, якщо середнє значення оптичної густини (ОП) у лунці з К-- не більше 0,2, а середнє значення ОП розчинів в лунках з К + - не менше 0,6.

ОП крит. розраховувати за формулою:

$$\text{ОП крит.} = \text{сер. знач. ОП К-} + A \quad (A=0,3)$$

де: А - коефіцієнт, який визначається методом статистичної обробки результатів постановки ІФА на підприємстві-виробнику, величину якого вказують для кожної серії в інструкції по застосуванню, що вкладається в коробку з набором і в паспорті на серію даного препарату.

Результат аналізу сироваток вважати позитивним, якщо значення ОП досліджуваного зразка вище 1,1 х ОП крит.

Результат аналізу сироваток вважати негативним, якщо значення ОП досліджуваного зразка нижче 0,9 х ОП крит.

Якщо значення ОП досліджуваного зразка перевищує 0,9 х ОП крит., Але менше значення 1,1 х ОП крит., Цей зразок вважати невизначеним. В цьому випадку необхідно повторне дослідження сироватки крові пацієнта на антитіла до *Toxoplasma gondii* в динаміці - через 1-2 тижні після першого забору крові. Бажано, щоб повторно взятий зразок аналізувався з попереднім (парні сироватки), що дозволить з більшою вірогідністю оцінити динаміку специфічних антитіл.

## XI. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ.



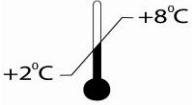




Термін придатності вказано на упаковці набору. Набір з вичерпаним терміном придатності використанню не підлягає.


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@prods.ru.

## IX. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.

	Тільки для лабораторного використання
	Код партії (номер серії)
	Температурні межі зберігання
	Термін придатності дата / місяць / рік
	Використовуйте інструкцію по застосуванню
	Містить подразнюючу речовину
	Знак відповідності

 - «Увага»;

 - Не допускати впливу сонячного світла;

 - Берігти від вологи.