

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного количественного
и качественного определения
иммуноглобулинов класса G
к *Toxoplasma gondii*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ВектоТоксо-IgG

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1752



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВектоТоксо-IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса G к *Toxoplasma gondii* в сыворотке (плазме) крови человека.

1.2. Набор содержит все необходимые для проведения ИФА реагенты, кроме дистиллированной воды.

1.3. Возможна постановка анализа в 2-х вариантах (по выбору) – качественном и количественном.

1.4. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы. Для исследования небольших партий проб возможны 4 независимые постановки ИФА по 24 анализа каждая, включая контроли (количественный вариант), либо 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроли (качественный вариант).

1.5. Диапазон измеряемых концентраций 10–200 МЕ/мл.

1.6. Набор адаптирован для постановки ИФА на аналитических анализаторах открытого типа («LAZURITE», производитель «DYNEX TECHNOLOGIES»; «TECAN Freedom EVOlyzer», производитель «TECAN»; «EVOLIS», производитель «BIO-RAD» и др.).

1.7. Токсоплазмоз – широко распространенное инфекционное заболевание человека и

животных, характеризующееся длительным хроническим течением, полиморфностью клинической картины (от бессимптомного носительства до летальных форм болезни) и возможностью внутриутробного инфицирования плода.

Возбудитель токсоплазмоза – *Toxoplasma gondii* – внутриклеточный паразит, размером 4–7 мкм.

Инфицированность населения колеблется от 10 до 90%.

В подавляющем большинстве случаев при токсоплазмозе наблюдается бессимптомное носительство паразита, сопровождающееся наличием специфических антител в крови.

В то же время возможны и клинически выраженные варианты течения первичной инфекции (как правило, возникающие у лиц с нарушением иммунитета) с развитием энцефалита, миокардита, миозита, увеита, формированием хронической инфекции.

Весьма актуальна проблема генерализации латентного токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных с развитием тяжелого некротического энцефалита с большой вероятностью летального исхода.

Токсоплазмоз входит в группу TORCH-инфекций, считающихся потенциально опасными для внутриутробного развития плода. Только первичное заражение женщины во время беременности может привести к инфицированию плода. Таким образом, практически важным

является вопрос о моменте инфицирования беременной: задолго до, непосредственно перед, либо во время беременности. Важное значение для интерпретации результатов имеет срок первого анализа на токсоплазмоз.

Наиболее тяжелое поражение плода обусловлено инфицированием в первые три месяца беременности – в период органогенеза.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения основан на двухстадийном твердофазном иммуноферментном анализе с применением антигена *Toxoplasma gondii* и моноклональных антител против IgG человека.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют с иммобилизованным на поверхности лунок планшета антигеном *T.gondii*. Имеющиеся в сыворотке специфические антитела к *T.gondii* связываются с антигеном, формируя комплекс антиген-антитело. На второй стадии связавшиеся специфические IgG взаимодействуют с конъюгатом моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляется реакцией с тетраметилбензидином (ТМБ). После добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству связанных в комплекс IgG к *T.gondii*.

3. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованным антигеном *Toxoplasma gondii* – 1 шт.;
- контрольный образец (концентрация Тохо-IgG (34–46) МЕ/мл; прозрачная или с легкой опалесценцией жидкость бледно-желтого цвета) – 1 фл., 1,3 мл;
- калибровочные растворы Тохо-IgG (А – 200 МЕ/мл; В – 100 МЕ/мл; С – 50 МЕ/мл; D – 25 МЕ/мл; Е – 10 МЕ/мл; F – 0 МЕ/мл; прозрачные жидкости розового цвета различной интенсивности) – 6 фл. по 1,3 мл;
- конъюгат (прозрачная жидкость синего цвета) – 1 фл., 13,0 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 10 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС; прозрачная бесцветная или бледно-желтая жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; прозрачная бесцветная жидкость, допускается выпадение осадка солей, растворяющегося при температуре от 30 до 40°C в течение 20 мин, при встряхивании пенится) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидина (прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- планшет для предварительного разведения образцов – 1 шт.;

- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки– 16 шт.;
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Специфичность при проверке отрицательных сывороток стандартной панели предприятия (СПП), не содержащих Тохо-IgG, составляет 100%.

4.2. Чувствительность при проверке положительных сывороток СПП, содержащих Тохо-IgG, составляет 100%.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты набора являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. *В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.*

5.3. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического

режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сывороток крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные передавать возбудителей вирусных и бактериальных инфекций.

5.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

5.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

5.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

5.8. Точность и воспроизводимость результатов анализа зависят от строгого выполнения следующих правил:

- не используйте реагенты с истекшим сроком годности;

- при постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест»;

- *запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;*

- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

- используйте стеклянную посуду, тщательно вымытую и ополоснутую дистиллированной водой, или (предпочтительно) одноразовую посуду;

- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спир-

том (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протирать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с раствором ТМБ;

- проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;

- не изменяйте протокол исследования;

- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

1. Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

2. Используйте указанный в инструкции режим промывки.

3. Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

4. Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки.

5. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

6. Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

7. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; или при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл;
- промыватель автоматический или ручной для планшетов;

- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100, 1000 мл;
- флаконы стеклянные, вместимостью 10–15 мл;
- вода дистиллированная.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

7.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови.

7.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 6 мес. Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

7.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

7.4. Для отбора исследуемых образцов и компонентов набора реагентов использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

8. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ И РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

8.1. Перед проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, следует выдерживать при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

8.2. Калибровочные растворы, контрольный образец, конъюгат, раствор ТМБ и стоп-реагент готовы к использованию.

8.3. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

8.3.1. Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

8.3.2. После отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение всего срока годности набора.

8.3.3. При постановке ИФА на автоматических анализаторах флаконы, входящие в состав набора, не помещать непосредственно в камеру анализатора, а необходимое количество компонентов для каждой постановки отбирать в отдельную чистую емкость. Исключение составляет стоп-реагент – взаимозаменяемый компонент для всех наборов ЗАО «Вектор-Бест», не требующий хранения в холодильнике в течение всего срока годности.

8.4. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

Неиспользованные стрипы хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.

8.5. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Исследуемые образцы развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток (РПРС), используя планшет для предварительного разведения образцов. Для этого к 90 мкл РПРС добавить 10 мкл сыворотки, тщательно перемешать. Цвет раствора должен при этом измениться с красного на желтый. Если изменения цвета не произошло, данную сыворотку анализировать не рекомендуется.

Хранение: до 3 часов при 18–25°C.

8.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА

Промывочный раствор приготовить разведением исходного концентрата ФСБ-Т в 25 раз.

Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количе-

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Количество используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	1,0	1,0	2,0	До 50
2	2,0	2,0	4,0	До 100
3	3,0	3,0	6,0	До 150
4	4,0	4,0	8,0	До 200
5	5,0	5,0	10,0	До 250
6	6,0	6,0	12,0	До 300
7	7,0	7,0	14,0	До 350
8	8,0	8,0	16,0	До 400
9	9,0	9,0	18,0	До 450
10	10,0	10,0	20,0	До 500
11	11,0	11,0	22,0	До 550
12	12,0	12,0	24,0	До 600

ство концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Хранение: не более 5 суток при 2–8°C.

8.7. ПОДГОТОВКА КОНЪЮГАТА

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в

чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки утилизировать **(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)**.

8.8. ПОДГОТОВКА РАСТВОРА ТМБ

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов), отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество раствора ТМБ.

Остатки раствора ТМБ из флакона или ванночки утилизировать **(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ)**.

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

9. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

***Внимание!** Внесение контрольных и исследуемых образцов проводить достаточно быстро, в течение **10–15 мин**, так как при более длительном внесении образцов в лунки планшета время инкубации первого и последнего образцов значительно отличается, что может привести к неправильной оценке результатов.*

9.1. Для постановки **количественного анализа** в лунки планшета А-1, А-2 внести по 100 мкл калибровочного раствора А (200 МЕ/мл), в В-1, В-2 – по 100 мкл калибровочного раствора В (100 МЕ/мл), в С-1, С-2 – по 100 мкл калибровочного раствора С (50 МЕ/мл) и т.д., учитывая, что маркировка каждого калибровочного раствора соответствует буквенному обозначению лунок на планшете.

В лунки G-1 и G-2 внести по 100 мкл контрольного образца.

Для постановки **качественного анализа** в лунки А-1, В-1 внести по 100 мкл контрольного образца, в лунки С-1, D-1 – по 100 мкл калибровочного раствора Е (10 МЕ/мл), в лунки Е-1, F-1 – по 100 мкл калибровочного раствора F (0 МЕ/мл).

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов (п. 8.5.). Таким образом, исследуемая сыворотка в лунке разбавляется в 100 раз. Для количественного анализа анализируемые образцы вносить в дублях.

Отрезать пленку требуемого размера. Планшет закрыть, плотно прижав пленку. Инкубировать 30 мин при 37°C.

9.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 8.6.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. *Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

9.3. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (п. 8.7.). Отрезать пленку требуемого размера. Лунки планшета плотно закрыть пленкой. Инкубировать 30 мин при 37°C.

Для внесения конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

9.4. По окончании инкубации промыть планшет 5 раз как описано в п. 9.2.

9.5. Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ (п. 8.8.). Выдержать в темном месте в течение 25 мин при 18–25°C.

Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

9.6. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента.

10. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности на одной длине волны – 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

11. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

11.1. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ:

- Внести:** по 100 мкл контрольного образца, калибровочных растворов Е, F в дублях;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных в РПРС.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

11.2. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ:

- Внести:** по 100 мкл калибровочных растворов А, В, С, D, Е, F, контрольного образца в дублях;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных в РПРС.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

12. ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

12.1. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Результаты исследования учитывают только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с калибровочным раствором F ($ОП_{ср. F} \leq 0,15$ о.е.);
- среднее значение ОП в лунках с контрольным образцом ($ОП_{ср. контр. обр.} \geq 0,3$ о.е.);
- $ОП_{ср. E} / ОП_{ср. F} \geq 2,0$.

12.1.1. Результат анализа считают **положительным**, если значение ОП анализируемого образца равно или превышает величину $ОП_{ср. E}$.

12.1.2. Результат анализа считают **отрицательным**, если значение ОП анализируемого образца ниже $ОП_{ср. E}$.

12.2. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Результаты исследования следует учитывать при соблюдении следующих условий:

- $ОП_{ср. F} \leq 0,150$ о.е.;
- $ОП_{ср. A} \geq 1,25$ о.е.;
- $ОП_{ср. B} / ОП_{ср. D} \geq 2,3$;
- $ОП_{ср. D} / ОП_{ср. E} \geq 1,6$;

Для определения концентрации Тохо-IgG в анализируемых образцах необходимо построить калибровочный график по средним величинам оптической плотности (ОП), измеренных в лунках с калибровочными растворами.

На трафарете для построения графика отложить средние значения величин оптической плотности ($ОП_{ср.}$), измеренных в лунках с калибровочными растворами (ось ординат Y), против концентрации Тохо-IgG в этих растворах, выраженной в МЕ/мл (ось абсцисс X). По полученным точкам провести калибровочную кривую, соединяя точки последовательно.

Для определения концентрации Тохо-IgG в анализируемых образцах на оси Y отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую до пересечения с калибровочной кривой. От полученной точки пересечения опустить перпендикуляр на ось X . Точка пересечения и является искомым значением концентрации Тохо-IgG в анализируемом образце.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

Анализируемые образцы, показавшие в ИФА ОП большую, чем ОП калибровочного раствора А (200 МЕ/мл), следует развести дополнительно в 10 раз и повторить ИФА.

Для этого в лунке планшета для предварительного разведения образцов к 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток

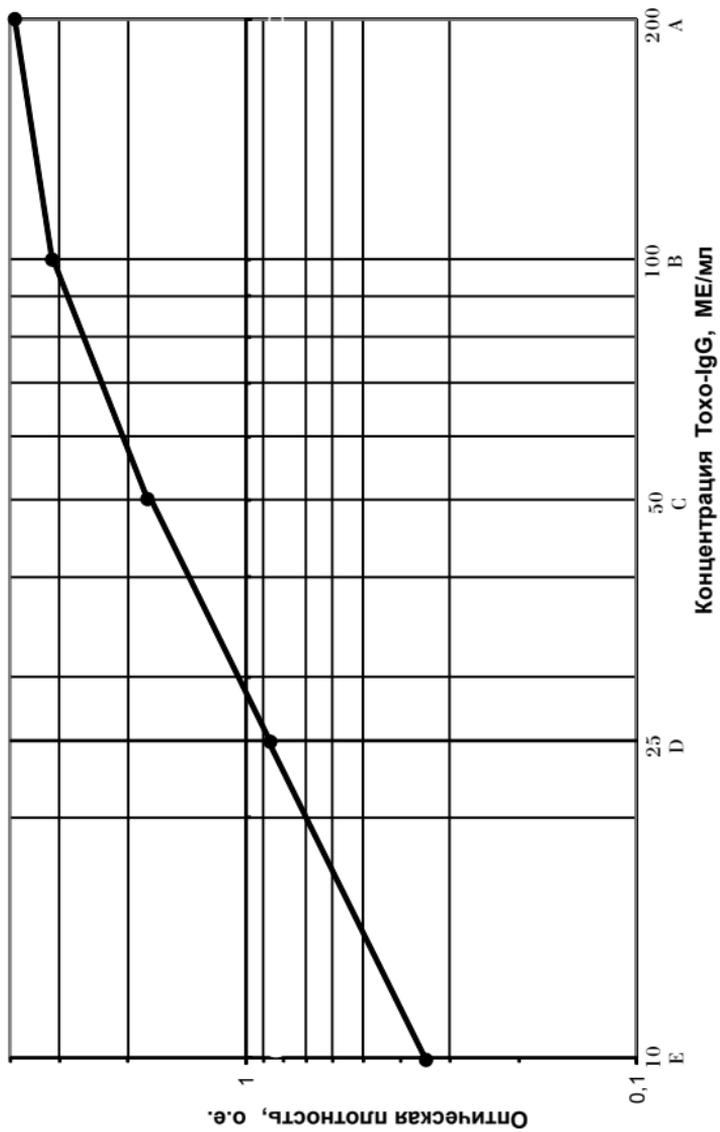


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации Тохо-IgG в калибровочных растворах.

добавить 10 мкл анализируемой сыворотки, тщательно перемешать (разведение 1:10). Затем к 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток добавить 10 мкл разведенной 1:10 сыворотки, тщательно перемешать (разведение 1:100). Далее, согласно п. 9.1. инструкции, в лунку планшета с иммобилизованным антигеном *Toxoplasma gondii* внести 90 мкл РРС и 10 мкл разведенной 1:100 сыворотки. Таким образом, исследуемая сыворотка разбавляется в лунке в 1000 раз.

При подсчете концентрации необходимо учесть фактор разведения, т.е. умножить полученный результат на коэффициент 10.

Если при разведении в 1 000 раз ОП сыворотки снова превышает величину ОП калибровочного раствора А, данный образец необходимо исследовать повторно в разведениях 1:10000, 1:100000 и т.д., а полученный результат умножить на коэффициент 100, 1000 и т.д., соответственно. В случае постановки количественного анализа контрольный образец предназначен для проверки точности и достоверности анализа.

Если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации Тохо-IgG в контрольном образце совпадает с указанной на этикетке концентрацией Тохо-IgG в контрольном образце, то полученные величины концентраций Тохо-IgG в исследуемых образцах следует считать достоверными.

12.2.1. Если концентрация Тохо-IgG в анализируемом образце менее 10 МЕ/мл, результат оценивают как **отрицательный**.

12.2.2. В случае отрицательного результата беременные относятся к группе риска по инфицированию *Toxoplasma gondii* во время беременности и каждые 1–2 месяца должны обследоваться на токсоплазмоз.

12.2.3. Если концентрация Тохо-IgG в анализируемом образце 10 МЕ/мл и более, результат оценивают как **положительный**.

12.2.4. В случае положительного результата ИФА на Тохо-IgG у беременных важно определить срок инфицирования.

Дифференцировать первичную инфекцию от паст-инфекции помогает комплексный подход к диагностике – сопоставление данных всего спектра серологических маркеров инфекции:

а) результатов выявления специфических IgM, IgA;

б) определения индекса avidности IgG и концентрации IgG в динамике.

Примечание. Если концентрация Тохо-IgG в исследуемом образце находится в диапазоне от 10 до 40 МЕ/мл (для качественного ИФА $OP_{\text{ср.Е.}} \leq OP_{\text{сыв.}} \leq OP_{\text{ср.контр.обр.}}$), ошибка при определении индекса avidности может быть достаточно велика. Такие образцы необходимо исследовать в динамике.

Анализ серологического профиля пациента позволяет определить вероятный срок инфицирования *T.gondii* (Приложение 1).

12.2.5. Концентрация Тохо-IgG от 10 до 40 МЕ/мл не обеспечивает иммунитет к *Toxoplasma gondii* при реинфекции. Беременные с таким уровнем концентрации Тохо-IgG относятся к группе риска по реинфицированию *Toxoplasma gondii* во время беременности и каждые 1–2 месяца должны обследоваться на токсоплазмоз.

12.2.6. Положительный результат не может быть подтвержден у лиц, получавших гемотрансфузии или препараты крови человека в течение последних нескольких месяцев.

12.2.7. Наличие Тохо-IgG в пуповинной крови новорожденного обычно является результатом трансплацентарного переноса IgG от матери к плоду. При отсутствии инфицирования плода к 4–6 мес. после рождения концентрация Тохо-IgG резко снижается вследствие распада материнских антител. В случае инфицирования – концентрация Тохо-IgG нарастает, однако в первом полугодии жизни «маскируется» наличием материнских антител.

12.2.8. Результаты определения Тохо-IgG у иммунодефицитных пациентов могут быть неоднозначными для интерпретации вследствие неадекватности иммунного ответа.

12.2.9. При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации Тохо-IgG в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

Приложение 1.
**Определение предлогаемого срока инфицирования
 в диагностике токсоплазмоза**

№/п	Результаты ИФА					Динамика концентрации Тохо-IgG	Динамика Тохо-АТ суммарных	Предлагаемая давность инфицирования	Риск инфицирования плода	Диспансерное наблюдение	Тактика врача-гинеколога
	Тохо-АТ суммарные	Тохо-IgG	Тохо-IgG-avidность	Тохо-IgM	Тохо-IgA						
1	+	-	-	-	-	-	-	-	Нет	Проводится для профилактики врожденного	Серологическое обследование (ИФА) на протяжении всей беременности – каждый месяц. Санитарно-профилактическое просвещение.
2	+	-	-	+	-	-	-	Предельно до 7 дней	Есть	Проводится	Исключить наличие РФ-М*. Требуется повторное обследование через 7–10 дней для определения IgG, IgA. ***
3	+	-	-	+	+	увеличение концентрации Тохо-АТ суммарных в парных сыворотках в 1,5–2 раза	увеличение концентрации Тохо-АТ суммарных	Предельно до 7 дней	Есть	Проводится	Требуется повторное обследование через 7–10 дней для определения IgG. ***

4	+	+	+	ИА** <30%	+	+	Увеличение концентрации Тохо-IgG в парных сыворотках в 1,5–2 раза	Увеличение концентрации Тохо-AT суммарных в парных сыворотках в 2–4 раза	Предыдущие 2–8 недель	Есть	Проводится	Исключить наличие РФ-М*. Экстренная профилактическая этиотропная терапия. В ранние сроки – проведение беременности по мед. показаниям (с согласия женщины).
5	+	+	+/-	ИА** <30%	+	Без динамики	Без динамики	Без динамики	3–6 месяцев	Есть (в зависимости от срока беременности на момент анализа)	Проводится	Исключить наличие РФ-М*. Показана этиотропная терапия, консультация у врача-инфекциониста.
6	+	+	+/-	ИА 30%– 40%	+/-	Без динамики	Без динамики	Без динамики	Более 6 месяцев	Есть (в зависимости от срока беременности на момент анализа)	Проводится	Показана консультация у врача-инфекциониста.
7	+	+	-	ИА >40%	-	Без динамики	Без динамики	Без динамики	Более 8 месяцев	Нет	Не проводится	Дальнейшего обследования на токсоплазмоз не требуется

* РФ-Ф – ревматоидный фактор класса М. Одновременное присутствие в крови РФ-М и специфических IgG может приводить к получению ложноположительных результатов при определении специфических IgM к антигенам методом непрямого ИФА.

** ИА – индекс avidности.

*** Экстренная профилактическая этиотропная терапия проводится при доказанной ранней стадии острого токсоплазмоза.

13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

13.1. Набор «ВектоТоксо-IgG» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2–8°C в течение всего срока годности (12 мес). Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание набора не допускается.

13.2. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности.

13.3. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов,
следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская обл.,
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46,
тел./факс (383) 332-67-49,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

За справками и консультацией обращаться
в лабораторию маркеров вирусных инфекций,
тел. (383) 227-75-40.

18.03.10.

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путем
ВИЧ-инфекция
ТОРСН-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52
E-mail: vbmarket@vector-best.ru
Internet: www.vector-best.ru