



## Набор для определения токсоплазмы IgG

**Кат. №** : 1798  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DRG (США)

**Внимание:** основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

Методика от 01-06-2004

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Разведение образцов 1:40  
5мкл / 200 мкл
2. Три инкубации при температуре 37°C.

Разведенный образец 100 мкл	Ферментный конъюгат 100 мкл	ТМБ реагент (one-step) 100 мкл
--------------------------------	--------------------------------	-----------------------------------

- 30 мин.                      30 мин.                      15 мин.
3. Остановить 100 мкл кислоты. Считать ОП при 450 нм.

### Предназначение

Набор токсоплазма IgG ELISA предназначен для определения IgG к *Toxoplasma gondii* в человеческой сыворотке.

### Введение

Токсоплазмоз вызывается внутриклеточными паразитами *Toxoplasma gondii* и передается при потреблении зараженного мяса или при контакте с кошачьими фекалиями содержащими ооцисты.

У подростков и взрослых в большинстве инфекция не имеет клинических проявлений. Однако, если беременная женщина заразится токсоплазмозом, он может через плаценту проникнуть к плоду приводя к развитию врожденного токсоплазмоза, что ведет к детской смертности и порокам развития.

У детей не имеющих симптомов заболевания аномалии могут развиваться в более поздний период жизни. *Toxoplasma IgG* ИФА – это точный серологический метод обнаружения антител *Toxoplasma IgG* для клинической идентификации токсоплазмоза.

### Принцип анализа

Очищенные антигены *Toxoplasma* наносятся на поверхность лунок. Разведенная сыворотка пациента добавляется в лунки, специфичные антитела к *Toxoplasma IgG*, если они присутствуют, связываются с антигенами. Весь несвязанный материал удаляется промывкой.

Добавляется конъюгат пероксидазы хрена, который связывается с антигенами с комплексами Антиген-антитело. Избыточный конъюгат пероксидазы хрена вымывается и добавляется раствор ТМБ - реагента. Каталитическая реакция энзимного конъюгата прекращается через определенное время. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству антител к IgG в образце.

Результаты считываются при помощи микропланшетного ридера и сравниваются с результатами контролей и калибратора.

### РЕАГЕНТЫ

#### Компоненты, поставляемые в наборе:

- Микротитровальные лунки: лунки покрытые антигеном *Toxoplasma* (12x8 лунок)
- Ферментный конъюгат (красного цвета): красный колпачок. 1 флакон (12 мл).
- Раствор для разведения образцов (голубого цвета): 1 флакон (22 мл).
- Калибратор cut-off: Желтый колпачок. Коэфф. токсоплазмы = 1 (150 мкл/флакон).
- Положительный калибратор: 100 МЕ/мл. Красный колпачок. (150 мкл/флакон).
- Положительный калибратор: 300 МЕ/мл. Зеленый колпачок. (150 мкл/флакон).

- Отрицательный контроль: Диапазон указан на упаковке. Синий колпачок. (150 мкл/флакон).
- Положительный контроль: Диапазон указан на упаковке. Пурпурный колпачок. (150 мкл/флакон).
- Концентрат промывочного раствора (20x): 1 бутылек (50 мл).
- ТМБ – реагент: 1 флакон (11 мл).
- Стоп-раствор: 1N HCl. Бесцветный колпачок. 1 флакон (11 мл).

### Хранение наборов и инструментов

1. Набор хранится при 2-8°C.
2. Планшеты хранятся в герметичной (сухой) упаковке с влагопоглотителем.
3. Реагенты стабильны до окончания срока годности набора.
4. Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца и яркого света во время хранения или применения.

### Меры предосторожности

#### 1. Потенциально биологически опасные вещества:

- калибратор и контроли содержат компоненты человеческого происхождения, которые прошли проверку реагентами разрешенными FDA и показали отрицательный результат на присутствие поверхностных антигенов гепатита–В и антител ВИЧ. Однако, т.к. не существует метода анализа, который может гарантировать отсутствие вируса ИЧ или гепатита В, с этими реагентами следует обращаться согласно уровню 2 биологической опасности, как рекомендовано в справочнике Центра по контролю над заболеваниями / национального института здравоохранения, «биологическая безопасность в микробиологической и биомедицинской лаборатории», 1984г.
3. Не пипетировать ртом. Нельзя курить, есть или пить в помещении где используются реагенты набора или образцы пациентов.
  4. Компоненты из различных лотов нельзя смешивать.
  5. Данный продукт содержит компоненты консервируемые с азидом натрия. Азид натрия может вступать в химическую реакцию со свинцом или медью сантехники образуя взрывчатые азиды металлов. После использования смойте большим количеством воды.

### Забор и подготовка проб

1. Отобрать образцы крови и выделить сыворотку.
2. Образцы можно хранить в холоде при 2-8°C до 7 дней или замороженными до 6 месяцев. Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Все реагенты должны быть доведены до комнатной температуры перед использованием (18-25°).
2. Развести 1 объем промывочного раствора (20x) 19-ю объемами дистиллированной воды.  
Напр. Разведите 50 мл промывочного раствора (20x) дистиллированной водой до 1000 мл . Промывочный раствор стабилен 1 месяц при 2-8°C. Перед использованием хорошо перемешать.

### Процедура анализа

1. Поместить требуемое количество лунок в держатель.
2. приготовить раствор (1:40) тестируемых образцов, отрицательный контроль, положительный контроль и калибратор добавив 5 мкл образца к 200 мкл раствора для разведения образцов. Хорошо перемешать.
3. Раскапать 100 мкл разведенных сывороток, калибраторов и контролей в соответствующие лунки. Для бланка реагента закапать 100 мкл раствора для разведения образцов в лунку 1А . Постучать по держателю, чтобы удалить пузырьки воздуха из жидкости и хорошо перемешать.
4. Инкубировать при 37°C в теч. 30 минут.
5. После инкубации удалить жидкость из всех лунок. Промыть лунки разведенным раствором для промывки и вытряхнуть 4 раза и 1 раз - дистиллированной водой.
6. Раскапать 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Осторожно перемешивать в течение 10 сек.
7. Инкубировать при 37°C 30 минут.
8. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок. Промыть и стряхнуть лунки 4 раза разведенным промывочным раствором (1x) и один раз промыть дистиллированной водой.
9. Раскапать 100 мкл ТМБ реагента в каждую лунку. Осторожно смешивать в течение 10 сек.
10. Инкубировать при 37°C 15 минут.
11. Добавить 100 мкл стоп-раствора (1N HCl) чтобы остановить реакцию.  
Осторожно перемешивать 30 секунд. Важно проследить чтобы синее окрашивание полностью сменилось на желтое. **Прим .: не**

допускается присутствие пузырьков воздуха в лунках перед считыванием.

12. Считывайте оптическую плотность при 450 нм в теч. 15 минут с помощью микропланшетного ридера.

#### Подсчет результатов:

1. Подсчитать среднее значение дубликатов калибратора cut-off (32 МЕ/мл) - хс.
2. Подсчитать среднее значение дубликатов положительного контроля, (хр), отрицательного контроля (хп) и образцов пациентов (Хs).
3. Подсчитать коэффициент Toxoplasma IgG для каждого определения разделив средние значения каждого образца на среднее значение калибратора, хс.

#### ПРИМЕР:

**Прим.:** Значения оптической плотности приводятся только в качестве примера, их не следует использовать для вычисления неизвестных. Каждый пользователь должен получить собственные данные.

#### коэфф. калибратора Cut-off Toxoplasma IgG = 1.0

1. Коэфф. Калибратора Cut-off (32 МЕ/мл) О.П. = 0.901, 0.909  
хс = 0.905

2. Отрицательного контроля О.П. = 0.097, 0.094  
хп = 0.096

Toxo IgG коэфф. = 0.096 / 0.905 = 0.11

3. Положительного контроля О.П. = 1.882, 1.921  
хр = 1.901

Toxo IgG коэфф. = 1.901 / 0.905 = 2.10

4. Образцов пациента О.П. = 2.459, 2.392  
хs = 2.426

Toxo IgG коэфф. = 2.426 / 0.905 = 2.68

#### КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА Toxoplasma IgG

Для количественного определения уровней anti-Toxoplasma IgG положительных образцов в МЕ/мл, ОП cut-off и положительных калибраторов выводятся на ось-у напротив соответствующих концентраций anti-Toxoplasma IgG 0, 32, 100 и 300 МЕ/мл на ось-х. Уровни Toxo IgG в сыворотке пациента считываются графически при использовании их индивидуальных значений ОП.

#### Например:

Тохо IgG (МЕ/мл)	A 450
0	0,051
32	1,040
100	1,659
300	2,103

(Пример калибровочной кривой см. в ориг. инструкции на стр. 4).

**Примечание:** эта калибровочная кривая используется только в демонстрационных целях, и не должна использоваться для вычисления неизвестных данных. Каждый пользователь должен получить свои собственные данные и стандартную кривую.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Тест может считаться действительным при условии соблюдения:

1. значение оптической плотности бланка реагента по воздуху полученное на микропланшетном ридере должно быть менее 0.250.
2. Если значение О.П. калибратора Cut-off ниже 0.250, тест считается недействительным и должен быть повторен.
3. Коэффициент Тохо IgG для отрицательного и положительного контролей должен быть в рамках диапазона указанного на сертификате качества.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

**отрицательно:** коэффициент антител IgG менее 0.90 означает отсутствие антител IgG к Toxoplasma Gondii (< 32 МЕ/мл).

**неясно:** коэффициент Тохо IgG между 0.91-0.99 является сомнительным. Образец необходимо проанализировать повторно.

**Положительно:** коэффициент Тохо IgG равный или более 1.00 или согласно показателю ВОЗ МЕ/мл значение более чем 32 МЕ/мл означает наличие антител IgG к T. Gondii. Указывает на возможность того, что пациент ранее перенес заболевание вирусом Toxoplasma.

#### Характеристики набора

##### Специфичность и чувствительность

Всего 120 образцов пациентов использовались чтобы определить специфичность и чувствительность теста. Результаты теста проведенного с ИФА - набором Toxoplasma IgG сравнивались с результатами коммерческих наборов ELISA: (См. табл. на стр. 4 в оригинале инструкции).

Чувствительность =  $A/(A+B) = 58 / 59 = 98,3\%$

Специфичность =  $D / (C+D) = 119 / 120 = 99,2\%$

Точность =  $(A+D) / (A+B+C+D) = 177 / 179 = 98,9\%$

##### Точность

Точность набора оценивалась тестированием трех различных сывороток 20 репликатов за 4 дня.

Образец	1	2	3	4
Внутри анализа	5,2	9,4	5,6	4,2
Между анализами	4,4	7,4	8,7	7,2

#### Ограничения процедуры

1. Для того чтобы предупредить ложноотрицательный и ложноположительный результат анализа вызванный специфическим IgG и ревматоидным фактором в некоторых образцах, реагенты этого набора были изготовлены таким образом, чтобы устранить эти вмешательства. Однако в образцах с чрезвычайно высоким ревматоидным фактором и высоким уровнем аутоиммунных антител, возможность этих вмешательств на может быть устранена полностью.
2. Процедура промывки крайне важна. Недостаточная промывка повлияет на низкую точность и ошибочно высокими показателями считываний.
3. Липемированная, гемолизированная, желтушная сыворотки могут показать ошибочный результат.
4. Как и при других серологических анализах, результаты этого анализа должны использоваться в сочетании с клинической картиной и другими диагностическими действиями.

#### Информация для заказа:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
Тел.: (0342) 775122  
Факс: (0342) 775612  
E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)