



## Набор для определения токсоплазмы IgM *Toxoplasma IgM*

Кат. № : 1799  
Количество : 96  
Производитель : DRG (США)

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

Методика 13-05-2005

### Предназначение

Набор токсоплазма IgM ELISA предназначен для определения IgM 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 IgM* ИФА – это точный серологический метод обнаружения антител *Toxoplasma IgM* для клинической идентификации токсоплазмоза.

### Принцип анализа

Очищенные антигены *Toxoplasma* наносятся на поверхность лунок. Разведенная сыворотка пациента добавляется в лунки, специфичные антитела к *Toxoplasma IgM*, 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 ТМВ - реагента. Каталитическая реакция энзимного конъюгата прекращается через определенное время. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству антител к IgM 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 кат-офф: Желтый колпачок. Коэфф. токсоплазмы = 1 (150 мкл/флакон).

- отрицательный контроль: Диапазон указан на упаковке. Бесцветный колпачок. (150 мкл/флакон).
- положительный контроль: Диапазон указан на упаковке. Красный колпачок. (150 мкл/флакон).
- концентрат промывочного раствора (20x): 1 бутылек (50 мл).
- ТМВ – реагент (готов к использованию): 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-B 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.

2. Данный набор разработан для диагностики «in vitro».
3. 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, калибратора 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 µl ТМБ реагента в каждую лунку. Осторожно смешивать в течение 10 сек.
  10. Инкубировать при 37°C 15 минут.
  11. Добавить 100 µl стоп-раствора (1N HCl) чтобы остановить реакцию.
  12. Осторожно перемешивать 30 секунд. Важно проследить чтобы синее окрашивание полностью сменилось на желтое.
- Прим. : не допускается присутствие пузырьков воздуха в лунках перед считыванием.**
13. Считывайте оптическую плотность 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 IgM* 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 IgM* = 1.0**

1. коэфф. Калибратора Cut-off (32 МЕ/мл) О.П. = 0.952, 0.885  
хс = 0.919
2. отрицательного контроля О.П. = 0.066, 0.065  
хп = 0.066  
Тохо IgM коэфф. = 0.066 / 0.919  
= 0.07
3. положительного контроля О.П. = 1.267, 1.276  
хр = 1.272  
Тохо IgM коэфф. = 1.272 / 0.919  
= 1.38
4. образцов пациента О.П. = 1.679, 2.665  
хs = 1.672  
Тохо IgM коэфф. = 1.672 / 0.919  
= 1.82

**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 IgM для отрицательного и положительного контролей должен быть в рамках диапазона указанного на сертификате качества.

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ**

**отрицательно:** коэффициент антител IgM менее 0.90 означает отсутствие антител IgM к *Toxoplasma Gondii*.

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

**Положительно:** коэффициент Тохо IgM равный или более 1.00 означает наличие антител IgM к *T. Gondii* 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 IgM* сравнивались с результатами коммерческих наборов ELISA:

(См. табл. на стр. 4 в оригинале инструкции).

Чувствительность =  $A/(A+B) = 19 / 19 = 100\%$

Специфичность =  $D / (C+D) = 130 / 134 = 97.0\%$

Точность =  $(A+D) / (A+B+C+D) = 149 / 159 = 97.4\%$

**Точность**

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

	Отриц.	Низк.	Полож.
Внутри анализа	1,9%	2,0%	2,0%
Между анализами	3,2%	2,7%	2,4%

**Ограничения процедуры**

1. Для того чтобы предупредить ложноотрицательный и ложноположительный результат анализа вызванный специфическим ИгG 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. липемированная, гемолизированная, желтушная сыворотки могут показать ошибочный результат.
3. Как и при других серологических анализах, результаты этого анализа должны использоваться в сочетании с клинической картиной и другими диагностическими действиями.

**Процедура анализа вкратце:**

1. разведение образцов 1:40 5 мкл / 200 мкл

. Три инкубации при 37°C

**Разведенный образец ферментный конъюгат ТМБ реагент (готов к использ.)**

100 мкл 100 мкл 100 мкл

30 мин. 30 мин. 15 мин.

3. остановить добавив 100 мкл кислоты. Считывать ОП при 450 нм.

**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)**