



**Vitrotest**<sup>®</sup>

# Vitrotest Anti-Toxocara

Імуноферментна тест-система для виявлення антитіл до *Toxocara canis*

## Інструкція з використання

1. Призначення
2. Клінічне значення
3. Принцип аналізу
4. Матеріали та обладнання
5. Застереження та техніка безпеки
6. Зберігання та стабільність
7. Підготовка зразків
8. Підготовка реагентів
9. Процедура аналізу
10. Облік результатів та їх інтерпретація
11. Діагностичні характеристики тесту
12. Обмеження аналізу

Література

Умовні позначення

IVD

Для in vitro діагностики

REF

TK058

## «Vitrotest Anti-Toxocara»

### Імуноферментна тест-система для виявлення антитіл до *Toxocara canis*

#### 1. Призначення

Імуноферментна тест-система «Vitrotest Anti-Toxocara» призначена для виявлення антитіл до *Toxocara canis* у сироватці чи плазмі крові людини.

Тест-набір може бути застосований як для проведення ІФА з використанням автоматичних піпеток та стандартного обладнання, так і для постановки на автоматичному імуноферментному аналізаторі відкритого типу.

#### 2. Клінічне значення

Токсокароз – зоонозне захворювання, зумовлене паразитуванням в організмі людини личинок круглих червів роду *Toxocara*, що часто протікає з ураженням внутрішніх органів та очей. Захворювання широко поширене в усіх країнах світу, до того ж, найчастіше уражуються діти. Відомі декілька видів цього роду, в патології людини найбільше вивчена роль *Toxocara canis* (гельмінт, що уражує, переважно, родину собачих), менше – *Toxocara cati* (уражує, переважно, представників родини кошачих).

Джерелом інвазії для людини являються собаки, що забруднюють ґрунт яйцями токсокар, виділяючи їх разом з фекаліями. Інфікованість собак цим гельмінтом складає приблизно 15-50%, але в деяких регіонах сягає 90%. Хворі люди не являються джерелом інвазії, оскільки в їхньому організмі цикл розвитку токсокар неповний (статевозрілі форми не утворюються).

Люди заражаються токсокарозом при проковтуванні яєць токсокар з їжею та водою, забрудненими виділеннями тварин, а також при контакті із зараженими тваринами. Личинки, що виходять з яєць, мігрують крізь стінки кишечника у кровеносне русло і потрапляють в різні органи та тканини, де інкапсулюються і, зберігаючи тривалий час біологічну активність, викликають личинкову форму захворювання. Мігруючи в організмі людини, личинки травмують тканини, залишаючи некрози та запальні процеси.

Клінічні прояви токсокарозу залежать від локалізації паразитів та інтенсивності інвазії. У клінічному перебігу виділяють дві форми інвазії: вісцеральний синдром «мігруючої личинки» (*visceral larva migrans*) та токсокароз очей (*ocular larva migrans*). Вісцеральний токсокароз часто проявляється лихоманкою з рецидивами протягом кількох тижнів, навіть місяців. Відмічається збільшення окремих лімфатичних вузлів, спостерігається ураження органів респіраторної системи (бронхіти та бронхопневмонії). Практично для всіх випадків характерною є еозинофілія.

Прижиттєвий паразитологічний діагноз токсокарозу є практично неможливим, оскільки виявити мігруючі личинки в організмі важко. Гістологічні дослідження біоптатів лише в ряді випадків дозволяють виявити личинки токсокар та встановити паразитологічний діагноз. В той же час чисельні дослідження показали, що серологічні дослідження з використанням очищених антигенів личинок, зокрема імуноферментний аналіз, є досить чутливим та специфічним методом діагностики. На сьогоднішній день цим методом виявляють антитіла, специфічні до екскреторно-секреторних та соматичних антигенів личинок *Toxocara canis*.

#### 3. Принцип аналізу

Виявлення антитіл до *Toxocara canis* в тест-системі «Vitrotest Anti-Toxocara» базується на принципі «непрямого» твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА).

Твердою фазою в тест-системі є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованими в лунках антигенами личинок *Toxocara canis*. Під час інкубації досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшета відбувається зв'язування специфічних до *Toxocara canis* антитіл з антигеном на твердій фазі. Після відмивання нез'язаних компонентів в лунки додається кон'югат антивидових (специфічних до антитіл класу IgG) моноклональних антитіл з пероксидазою хрому, що зв'язується з імуноними комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти відмиваються. Візуалізація утворених імуноних комплексів відбувається при внесенні в лунки розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). В результаті реакції розчин в лунках, де утворились імуноні комплекси, забарвлюється в синій колір. Реакція зупиняється додаванням стоп-реагенту, при цьому синій колір забарвлених лунок змінюється на жовтий. Результат аналізу визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620 нм.

#### 4. Матеріали та обладнання

##### 4.1 Склад набору

**ІФА-планшет** – 12 стрипів по 8 лунок (з можливістю відокремлення лунок), з іммобілізованими антигенами личинок *Toxocara canis*.

**Позитивний контроль** – 1 мікропробірка, що містить 0,3 мл розчину імуноглобулінів людини, специфічних до *Toxocara canis* (рожевий).

**Негативний контроль** – 1 мікропробірка, що містить 0,5 мл негативної сироватки крові людини (жовтий).

**Розчин для розведення сироваток РРС** – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину з екстрактом молока, детергентом та консервантами (коричнево-зелений).

**Розчин кон'югату РК** – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину моноклональних антитіл до IgG людини, кон'югованих з пероксидазою хрому, із стабілізаторами та консервантом (зелений). Готовий до використання.

**Розчин ТМБ** – 1 флакон, що містить 12 мл розчину ТМБ і перекису водню з стабілізатором та консервантом (безбарвний).

**Розчин для промивання Tw20 (20x)** – 1 флакон, що містить 50 мл 20-ти кратного концентрату фосфатного буферу з Твіном-20 (безбарвний).

**Стоп-реагент** – 1 флакон, що містить 12 мл розчину 0,5 М сірчаної кислоти (безбарвний).

**Клейка плівка** – 2 аркуша плівки для заклеювання планшетів під час інкубації.

**Бланк внесення проб** – 1 аркуш для запису схеми внесення зразків.

**Інструкція** – 1 екземпляр інструкції з використання

#### 4.2 Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

Для постановки аналізу необхідні такі додаткові реактиви, матеріали та обладнання:

- деіонізована або дистильована вода;
- фільтрувальний папір;
- мірні циліндри на 10, 200 та 1000 мл;
- одноразові рукавички;
- розчин перекису водню 6%;
- одноразовий або чистий посуд для приготування реактивів (флакони та ванночки);
- таймер;
- одно- та багатоканальні автоматичні піпетки змінного об'єму на 20, 200 та 1000 мкл та наконечники до них;
- термостат на 37°C;
- контейнер для твердих відходів;
- контейнер для рідких відходів;
- <sup>1</sup>автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- <sup>2</sup>одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.

<sup>1,2</sup> *Будь ласка, проконсультуйтеся з нами щодо адаптації Вашого обладнання.*

## 5. Застереження та техніка безпеки

### 5.1. Застереження:

– не використовуйте компоненти тест-системи після закінчення терміну придатності;  
– не використовуйте під час аналізу та не змішуйте компоненти різних серій та компоненти із тест-систем різних нозологій;

– не використовуйте реактиви інших виробників у поєднанні з наборами Vitrotest™;

*Примітка: Допускається використання Розчину для промивання Tw20 (20x), Розчину ТМБ та Стоп-реагенту інших серій, які відрізняються від тих, що вкладені до тест-набору. Ці реактиви використовуються в інших тест-системах виробництва ТОВ „ІВК „Рамінтек”. Будь ласка, проконсультуйтеся з нами для отримання детальної інформації.*

– після використання реагенту закривайте кожен флакон своєю кришкою;

– чітко дотримуйтеся режиму промивання планшетів, вказаного в пунктах інструкції;

– під час промивання контролюйте наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;

– кожного разу використовуйте новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;

– уникайте потрапляння прямих сонячних променів на реактиви тест-системи;

– розчин ТМБ має бути безбарвним або світло блакитним перед використанням. Якщо розчин забарвлений в синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникайте контакту розчину ТМБ з металами або іонами металів. Для роботи використовуйте лише чистий, ретельно виполосканий дистильованою водою посуд;

– для внесення в лунки планшета ТМБ-субстрату використовуйте лише нові наконечники, що не були у використанні;

– ні в якому разі не використовуйте один й той же посуд для розчину кон'югату та хромогену.

### 5.2. Техніка безпеки:

– всі реактиви набору призначені лише для in vitro діагностики;

– постановку аналізу проводити лише у гумових рукавичках;

– не піпетувати розчини ротом;

– у контролях тест-системи «Vitrotest Anti-Toxocara» не містять HBsAg та антитіл до ВІЛ 1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однак, працювати із контролями та досліджуваними сироватками слід як із потенційно небезпечним інфекційним матеріалом;

– рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6% упродовж 3 годин при кімнатній температурі, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5% протягом 30 хвилин, чи іншими дезінфікуючими агентами;

– тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування при 121°C упродовж 1 години;

– не автоклавуйте розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;

– слід уникати розбризкування розчинів ТМБ та стоп-реагенту, а також їх контакту із слизовими оболонками та шкірою;

– у разі розбризкування розчинів, що не містять кислоти (наприклад, сироваток), обробити поверхню 6%-м розчином перекису водню, а потім витерти насухо фільтрувальним папером.

## 6. Зберігання та стабільність

Реагенти тест-системи стабільні протягом строку придатності, вказаного на етикетці, за умови їх зберігання при 2-8°C.

Транспортувати набір при температурі 2-8°C. Допускається одноразове транспортування при температурі не вище 20°C протягом двох діб.

## 7. Підготовка зразків

Зразки сироватки чи плазми крові можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 3 діб після забору. Допускається більш тривале зберігання зразків замороженими при температурі від -20 до -70°C. Заморожені зразки перед використанням розморожують та витримують при кімнатній температурі упродовж 30 хвилин. Після розморожування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникайте повторного заморожування-відтаювання досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільняються від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об./хв. протягом 10-15 хвилин. Не використовуйте зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактерійним проростом.

## 8. Підготовка реагентів

*Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи «Vitrotest Anti-Toxocara» при кімнатній температурі 18-25°C протягом 30 хвилин перед використанням.*

### 8.1. Підготовка ІФА-планшета

Для попередження конденсації води в лунках відкривайте ІФА-планшет лише після витримання 30 хвилин при кімнатній температурі. Розкрийте вакуумну упаковку, відокремте необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакуйте та **зберігайте щільно закритим на замок (zip-lock)** при температурі 2-8°C. Зберігання в такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

### 8.2. Розчин для промивання

Флакон містить 50 мл 20х концентрату буферу з детергентом. Для приготування розчину для промивання розведіть концентрат 1:20 (тобто, 1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішайте. Наприклад: на 4 мл концентрату – 76 мл дистильованої води, що достатньо для одного стрипу. У випадку наявності кристалів в концентраті розчину для промивання прогрійте флакон при 37°C протягом 15-20 хвилин.

Розведений розчин можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 7 діб.

## 9. Процедура аналізу

9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу (кількість досліджуваних зразків та чотири лунки для контролів), вставити їх в рамку ІФА-планшета. Лунки з контролями обов'язково включати до кожної постановки аналізу.

9.2. Заповнити бланк внесення проб.

9.3. Приготувати розчин для промивання згідно пункту 8.2.

9.4. В лунки стрипів внести по 90 мкл розчину для розведення сироваток.

9.5. Внести в лунки по 10 мкл контролів та досліджуваних зразків: в лунку А1 – позитивний контроль, в лунки В1, С1 та D1 – негативний контроль. В решту лунок – досліджувані зразки. Під час внесення сироваток та контролів обережно піпетуйте суміш – відбувається зміна кольору розчину для розведення сироваток з коричнево-зеленого на синій.

При визначенні титру специфічних антитіл у сироватці крові проводять двократне титрування досліджуваного позитивного зразка в наступних розведеннях 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320. Для титрування кожного позитивного зразка використовують шість лунок планшета - в першу лунку вносять 180 мкл розчину для розведення сироваток та 20 мкл досліджуваного позитивного зразка, в решту п'ять лунок вносять по 100 мкл розчину для розведення сироваток. Сироватку титрують шляхом переносу по 100 мкл з кожного попереднього розведення в наступне. Після внесення 100 мкл з попереднього розведення слід новим наконечником обережно піпетувати одержану суміш, і лише потім переносити в наступну лунку.

9.6. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.

9.7. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:

- видалити вміст лунок в контейнер для рідких відходів;
- наповнити лунки стрипів не менш ніж по 300 мкл розчином для промивання, залишити не менш як на 30 секунд;
- аспірувати розчин з лунок, залишковий об'єм розчину після аспірації на всіх етапах промивання має складати не більше 5 мкл;
- повторити процедуру промивання ще чотири рази;

- після останньої аспірації позбавитись зайвої вологи, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.
  - 9.8. В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату. Стрипи накрити новою клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.
  - 9.9. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в пункті 9.7.
  - 9.10. «Розчин ТМБ» є готовим для використання розчином ТМБ-субстрату з перекисом водню. Розчин ТМБ має бути безбарвним, слід запобігати потраплянню сонячного проміння на розчин. Вносити розчин ТМБ слід чистим новим наконечником: обережно відібрати розчин ТМБ з флакону і, не торкаючись дна та стінок лунок планшета, внести по 100 мкл розчину ТМБ в лунки.
  - 9.11. Інкубувати ІФА-планшет протягом 30 хвилин в темному місці при кімнатній температурі 18-25°C.
  - 9.12. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки стрипів по 100 мкл стоп-реагенту, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні розчину ТМБ.
  - 9.13. Виміряти на рідері оптичну густину в кожній лунці стрипів при довжині хвилі 450/620 нм протягом 5 хвилин після зупинення реакції. Зверніть увагу на чистоту зовнішньої поверхні дна лунок.
- Облік результатів аналізу можна проводити в одноквильовому режимі при довжині хвилі 450 нм, в цьому випадку слід залишити лунку для встановлення бланку (в таку лунку вносити лише розчин ТМБ та стоп-реагент).*

## 10. Облік результатів та їх інтерпретація

### 10.1. Достовірність результатів аналізу:

Розрахувати середнє значення негативного контролю

$$ОГ K_{-середнє} = (ОГ K_{-1} + ОГ K_{-2} + ОГ K_{-3}) / 3.$$

Результати аналізу вважати достовірними, якщо:

- оптична густина (ОГ) позитивного контролю не нижче 0,8 оптичних одиниць (ОО),
- ОГ в лунках з негативним контролем (ОГ K-) не вище 0,15 ОО.
- оптична густина кожного значення негативного контролю відрізняється не більше ніж в два рази від середнього значення негативного контролю, тобто

$$ОГ K_{-середнє} \times 0,5 \leq ОГ K_{-n} \leq ОГ K_{-середнє} \times 2,0.$$

Якщо одне із значень негативного контролю виходить за межі цього інтервалу, його відкидають і розраховують середнє значення K- за рештою значень негативного контролю.

### 10.2. Облік результатів аналізу.

Рівень граничного значення (Cut off) розрахувати, додаючи до середнього значення негативного контролю величину 0,3, тобто

$$Граничне значення = ОГ K_{-середнє} + 0,3.$$

Для кожного досліджуваного зразка розрахувати індекс позитивності (ІП)

$$ІП = \frac{ОГ досліджуваного зразка}{Граничне значення}.$$

### 10.3. Інтерпретація результатів

Досліджувані зразки із значенням ІП **вище 1,1** вважати **позитивними** (ІП > 1,1).

Зразки із значенням ІП **нижче 0,9** вважати **негативними** (ІП < 0,9).

Зразки із значенням ІП **в межах 0,9-1,1** вважати **невизначеними** (0,9 ≤ ІП ≤ 1,1). Такі сироватки рекомендується дослідити повторно в двох лунках тест-системи. Якщо результати знову будуть в межах невизначених, слід провести тестування сироватки, отриманої через 2-4 тижні. У разі одержання невизначених результатів вважати, що сироватка не містить специфічних до *Toxocara canis* антитіл.

В позитивних сироватках рекомендується визначати титр специфічних антитіл шляхом двократного титрування, як описано у п. 9.5. За кінцевий титр приймають те найбільше розведення досліджуваної сироватки при котрому ІП вище 1,1.

Подальшу інтерпретацію результатів лабораторних досліджень має проводити лікар з урахуванням епідеміологічного анамнезу, клінічної картини та даних щодо визначення рівня еозинофілів крові. Діагноз токсокарозу може бути встановлений у хворих з титром антитіл 1/160 чи вище, при еозинофілії більше 10% і за наявності клінічних проявів. При відсутності клінічних проявів та нижчих титрах специфічних антитіл і еозинофілії менше 10% можна допустити носійство токсокар, що не завжди призводить до захворювання. У таких випадках рекомендується провести повторне дослідження пацієнта через 3 місяці. Зростання титрів специфічних антитіл в динаміці в поєднанні з наростанням еозинофілії може свідчити про розвиток токсокарозу.

## 11. Діагностичні характеристики тесту

### 11.1. Специфічність та чутливість

Чутливість тест-системи «Vitrotest Anti-Тохосара» оцінювали за допомогою панелі охарактеризованих сироваток, що складається з 78 зразків сироваток крові людини, що містять антитіла до *Toxocara canis* (сироватки були попередньо перевірені в іншій комерційній тест-системі для виявлення антитіл класу IgG до *Toxocara canis*, яка має СЕ маркування). В тест-системі «Vitrotest Anti-Тохосара» 74 сироватки були визначені позитивними. При дослідженні 112 негативних на антитіла до *Toxocara canis* сироваток показник специфічності становив більше 97%.

### 11.2. Точність

*Відтворюваність результатів в межах однієї постановки аналізу (Intra assay reproducibility)*

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали в 32 повторях на двох серіях тест-систем.

№ сироватки	ІП	CV <sub>1</sub> , %	CV <sub>2</sub> , %
182	4,8	6,9	7,1
187	3,8	7,7	8,4

*Відтворюваність результатів між різними постановками аналізу (Inter assay reproducibility)*

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали протягом трьох днів в трьох постановках аналізу по 8 повторів в кожному аналізі.

№ сироватки	ІП	CV, %
182	4,7	7,8
187	4,0	8,2

## 12. Обмеження аналізу

Позитивний результат в тест-системі «Vitrotest Anti-Тохосара» є свідченням наявності у пацієнта антитіл класу IgG, специфічних до *Toxocara canis*. Наявність антитіл цього класу у новонароджених не є доказом інвазії *Toxocara canis*.

Невизначені результати можуть свідчити про інвазії *Toxocara canis* в анамнезі.

Негативний результат у тест-системі «Vitrotest Anti-Тохосара» свідчить про відсутність у сироватці крові обстежуваної людини антитіл, специфічних до *Toxocara canis*, або концентрація специфічних антитіл нижче межі чутливості аналізу.

Остаточний діагноз не може бути встановлений лише на підставі результатів серологічного тесту. При встановленні діагнозу слід враховувати результати комплексу лабораторних та інструментальних досліджень, а також клінічні прояви захворювання. Не можна повністю виключити перехресні реакції з антитілами до антигенів інших гельмінтів.

## Література

1. Гельминтозы человека // Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К.Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 942-986.
2. Руководство по инфекционным болезням с атласом инфекционной патологии. Под редакцией Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова, А.Н. Ускова. – СПб, 2000.
3. Brunello F, Falagiani P, Genchi C. Enzyme immunoassay (ELISA) for the detection of specific IgG antibodies to *Toxocara canis* ES antigens. // Boll. Ist. Sieroter. Milan. – 1986 – V.65 N.1 – p.54-60.
4. Carlier Y., Yang J., Bout D. and Capron A. The use of an excretory-secretory antigen for an ELISA specific serodiagnosis of visceral larva migrans. // Biomed Pharmacother – 1982. – V.36 N.1 – p.39-42.
5. Jacoquier P., Gottstein B., Stingelin Y. and Eckert J. Immunodiagnosis of toxocarosis in humans: evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay kit. // J. Clin. Microbiol. - 1991. – V. 29 N.9 – p.1831-1835.
6. Magnaval J.F., Glickman L.T., Dorchie Ph. and Morassin B. Highlights of human toxocarosis. // J. Clin. Microbiol. – 2001. – Vol.39, No.8 – p.2991-2994.
7. Noordijn R., Smith H.V., Mohamad S., et. al. Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. // Acta Tropica. – 2005 - V. 93 – p. 57-62.

## Умовні позначення

Інтерпретація умовних символів:

	«Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i> »
	«Код партії»
	«Номер за каталогом»
	«Дата виготовлення»
	«Використати до»
	«Температурне обмеження»
	«Містить достатньо для (n-) випробувань»
	«Берегти від прямих сонячних променів»
	«Увага, дивись інструкцію з використання»
	«Виробник»
	«Ознайомлення з інструкціями для застосування»

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтеся до виробника:



Товариство з обмеженою відповідальністю «Іноваційно-виробнича компанія «Рамінтек»  
03039 Україна, м. Київ, пр-т 40-річчя Жовтня, 7, оф. 227 (юридична адреса)  
07300 м. Вишгород, Київська обл., вул. Шолуденка, 19 (фактична адреса)  
тел. +380 44 222-76-72

## Схема проведення аналізу в тест-системі «Vitrotest Anti-Toxocara»

Витримати реагенти 30 хв. при 18-25°C

Приготувати розчин для промивання планшета, розвести 20х концентрат розчину для промивання *TW20* очищеною водою 1:20 (тобто, 1+19). Наприклад, 4 мл розчину + 76 мл води

Заповнити бланк внесення проб для аналізу

В лунки планшета внести по 90 мкл розчину для розведення сироваток

Внести по 10 мкл контролів та досліджуваних зразків в лунки:

A1 – позитивний контроль,

B1, C1, D1 – негативний контроль,

E1 та решта лунок – досліджувані зразки

*Під час внесення сироваток відбувається зміна кольору розчину в лунках з коричневого на синій*

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату (зелений)

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину ТМБ-субстрату

Інкубувати планшет 30 хв. в темряві при кімнатній температурі (18-25°C)

В лунки стрипів внести по 100 мкл стоп-реагенту

Виміряти оптичну густина в лунках на спектрофотометрі при 450/620 нм

Розрахувати граничне значення (ГЗ) в тест-системі «Vitrotest Anti-Toxocara» за формулою:

$$ГЗ = ОГ К - середнє + 0,3$$

Розрахувати індекс позитивності (ІП) для досліджуваних зразків:  $ІП = \frac{ОГ \text{ досліджуваного зразка}}{\text{граничне значення}}$

Провести облік результатів аналізу згідно таблиці:

Значення ІП	Результат
$ІП_{\text{зразка}} > 1,1$	позитивний
$0,9 \leq ІП_{\text{зразка}} \leq 1,1$	невизначений
$ІП_{\text{зразка}} < 0,9$	негативний