



Vitrotest[®]

Vitrotest TOXO-IgG Avidity

Імуноферментна тест-система для визначення
індексу авідності антитіл класу IgG
до *Toxoplasma gondii*

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. Розведення зразків та підготовка реагентів
9. Процедура аналізу
10. Облік результатів та їх інтерпретація
11. Обмеження аналізу

Література

Умовні позначення

IVD

Для in vitro діагностики

REF

TK064

«Vitrotest TOXO-IgG Avidity»

Імуноферментна тест-система для визначення індексу авідності антитіл класу IgG до *Toxoplasma gondii*

1. Призначення

Імуноферментна тест-система «Vitrotest TOXO-IgG Avidity» призначена для визначення індексу авідності антитіл класу IgG до *Toxoplasma gondii* у сироватці чи плазмі крові людини.

Для визначення індексу авідності в тест-системі «Vitrotest TOXO-IgG Avidity» можуть використовуватись лише сироватки, що містять антитіла класу IgG до *T.gondii* (концентрація специфічних IgG вище 30 МО/мл у тест-системі «Vitrotest TOXO-IgG»).

2. Клінічне значення

Токсоплазмоз – паразитарне захворювання, збудником якого є внутрішньоклітинний паразит *Toxoplasma gondii*. Інфікування *T.gondii* рідко призводить до клінічно вираженого токсоплазмозу. У разі розвитку захворювання токсоплазмоз протікає латентно чи хронічно. Особливого значення набуває проблема вчасного виявлення захворювання у вагітних та у хворих з пригніченою імунною системою. Наслідки первинної інфекції матері в період вагітності у 30-50% випадків призводять до переривання вагітності або народження дитини з фізичними і розумовими вадами.

При токсоплазмозі специфічні до *T.gondii* антитіла класу IgM з'являються на 2-му тижні інфікування, специфічні ж антитіла класу IgG з'являються пізніше, досягають високої концентрації на 7-10-му тижні; далі високий рівень їх або зберігається роками, або знижується до мінімальних значень. Наростання більш як вдвічі титрів антитіл класу IgG у сироватці крові, отриманої через 2-4 тижні після первинного обстеження, може вказувати або на первинну інфекцію, або на реактивацію хронічного токсоплазмозу.

Зважаючи на тяжкі наслідки первинного токсоплазмозу у вагітних постає питання диференціації первинної інфекції від реінфекції чи реактивації токсоплазмозу. Одночасне виявлення специфічних антитіл класу IgM та IgG не дозволяє точно встановити діагноз первинного токсоплазмозу, оскільки, специфічні антитіла класу IgM можуть виявлятися в сироватці людини протягом 2 років з моменту інфікування, а також при реінфекції та реактивації захворювання. В таких випадках визначення індексу авідності специфічних IgG антитіл методом імуноферментного аналізу допомагає розрізнити первинну та паст-інфекцію. Це визначення ґрунтується на властивостях імунної системи змінювати синтез низькоавідних антитіл при первинній інфекції на синтез високоавідних антитіл при паст-інфекції. Під авідністю розуміють міцність зв'язку антигена з антитілом. На початку гострої первинної інфекції продукуються низькоавідні IgG до *T.gondii*. Надалі, протягом декількох місяців авідність антитіл зростає. Високоавідні IgG до *T.gondii* зберігаються в організмі тривалий час і виявлення їх свідчить про паст-інфекцію або реактивацію токсоплазмозу (можливо й при одночасному виявленні IgM до *T.gondii*).

3. Принцип аналізу

Визначення індексу авідності антитіл класу IgG до *Toxoplasma gondii* в тест-системі «Vitrotest TOXO-IgG-Avidity» базується на принципі «непрямого» твердофазного імуноферментного аналізу.

Твердою фазою в тест-системі є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованими в лунках очищеними антигенами *Toxoplasma gondii*. Під час інкубації досліджуваних зразків (в паралельних лунках ІФА-планшета) відбувається зв'язування специфічних до *Toxoplasma gondii* антитіл з антигеном на твердій фазі. Після аспірації в паралельні лунки вносять буфер для дисоціації (БД) і розчин порівняння та інкубують протягом певного часу. Денатуруючий агент в складі буфера для дисоціації руйнує слабкі зв'язки низькоавідних антитіл з антигеном. Потім промивають всі лунки розчином для промивання та додають кон'югат антивидових моноклональних антитіл (специфічних до IgG людини) з пероксидазою хрому, що зв'язується з імунними комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти відмиваються. Візуалізація утворених імунних комплексів відбувається при внесенні в лунки розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). В результаті реакції розчин в лунках, де утворились імунні 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. Індекс авідності розраховують шляхом визначення співвідношення оптичної густини в лунках з буфером для дисоціації, до оптичної густини в лунках з розчином порівняння. Отриманий результат виражають у відсотках.

4. Матеріали та обладнання

4.1 Склад набору

ІФА-планшет – 12 стрипів по 8 лунок (з можливістю відокремлення лунок), з іммобілізованим антигеном *Toxoplasma gondii*.

Позитивний контроль високоавідний K+BA – 1 мікропробірка, що містить 0,3 мл розчину високоавідних специфічних до *T.gondii* IgG людини (рожевий).

Позитивний контроль низькоавідний K+HA – 1 мікропробірка, що містить 0,3 мл розчину низькоавідних специфічних до *T.gondii* IgG людини (зелений).

Негативний контроль – 1 мікропробірка, що містить 0,3 мл негативної сироватки крові людини (жовтий).

Розчин для попереднього розведення сироваток РПРС – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину з детергентом та консервантом (коричнево-зелений).

Розчин для розведення сироваток РРС – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину з детергентом та консервантом (жовтий).

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 (фіолетовий). Готовий до використання.

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

Буфер для дисоціації БД – 1 флакон, що містить 8 мл розчину денатуруючого агенту. Готовий до використання (рожевий).

Розчин порівняння РП – 1 флакон, що містить 8 мл буферного розчину з детергентом. Готовий до використання (блакитний).

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

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

Планшет для попереднього розведення сироваток – 12 стрипів по 8 лунок.

Клейка плівка – 2 аркуші 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;
- ¹автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- ²одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.

^{1,2}Будь ласка, проконсультуйтеся з нами щодо адаптації Вашого обладнання.

5. Застереження та техніка безпеки

5.1. Застереження:

– не використовуйте компоненти тест-системи після закінчення строку 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 для попереднього розведення сироваток РПРС, 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 перед використанням має бути безбарвним або світло-блакитним. 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;

– в позитивних та негативному контролях тест-системи «Vitrotest TOXO-IgG Avidity» не виявлено HBsAg та антитіла до ВІЛ 1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однак працювати з калібраторами 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, або іншими дезінфікуючими агентами;

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

– не автоклауйте 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 перекисом водню, а потім витерти насухо фільтрувальним папером.

6. Зберігання та стабільність

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

Транспортувати набір слід 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 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. Розведення зразків та підготовка реагентів

Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи «Vitrotest TOXO-IgG Avidity» 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 20x 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.

8.3. Попереднє розведення зразків та контролів

Досліджувані зразки та контролі попередньо розведіть у 10 разів розчином для попереднього розведення сироваток. Для цього в необхідну кількість лунок планшета для попереднього розведення сироваток (комплектується в наборі) внесіть по 90 мкл розчину для попереднього розведення сироваток та додайте по 10 мкл сироваток та контролів. Під час внесення сироваток та контролів обережно піпетуйте суміш, при цьому колір розчину для попереднього розведення сироваток повинен змінитись з коричнево-зеленого на синій.

Процедуру розведення зразків та контролів слід проводити безпосередньо перед аналізом.

Увага! Для коректного визначення індексу авідності сироваток з високим вмістом IgG до *T.gondii* (значення оптичної густини в тест-системі «Vitrotest TOXO-IgG» вище 3,0 оптичних одиниць) слід приготувати їх попереднє розведення 1:40. Кінцеве розведення таких сироваток в лунках ІФА-планшета буде становити 1:400.

8.4. Буфер для дисоціації

Буфер для дисоціації готовий до використання. У випадку появи кристалів в БД прогрійте флакон при 37°C протягом 15-20 хвилин

9. Процедура аналізу

9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу (по дві лунки для кожного досліджуваного зразка та контролів), вставити їх в рамку ІФА-планшета. Лунки з контролями обов'язково включати до кожної постановки аналізу.

На рисунку показано послідовність внесення контролів і досліджуваних зразків. Таким чином, максимальна кількість зразків сироваток та/або плазми, яка може бути досліджена у тест-системі «Vitrotest TOXO-IgG Avidity», становить 45 аналізів.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	K+ BA	K+ BA	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
B	K+ HA	K+ HA	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
C	K-	K-	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40
D	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33	41	41
E	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34	42	42
F	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35	43	43
G	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36	44	44
H	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37	45	45
	РП	БД	РП	БД	РП	БД	РП	БД	РП	БД	РП	БД

9.2. Заповнити бланк внесення проб.

9.3. Приготувати розчин для промивання згідно пункту 8.2.

9.4. Провести попереднє розведення контролів та сироваток відповідно до пункту 8.3.

9.5. В лунки стрипів ІФА-планшета внести по 90 мкл розчину для розведення сироваток.

9.6. Внести в паралельні лунки ІФА-планшета попередньо розведені контролі та досліджувані зразки в наступному порядку: в лунки А1, А2 – 10 мкл розведеного 1:10 К+ ВА, в лунки В1, В2 – по 10 мкл розведеного 1:10 К+ НА, в лунки С1, С2- по 10 мкл розведеного 1:10 негативного контролю, в лунки D1, D2 – по 10 мкл розведеного 1:10 досліджуваного зразка №1 і так далі, згідно наведеної схеми. Таким чином, кінцеве розведення сироваток в лунках ІФА-планшета має становити 1:100. Під час внесення розведених сироваток та контролів обережно піпетуйте суміш – відбувається зміна кольору розчину для розведення сироваток з жовтого на зелений.

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

9.8. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та аспірувати вміст лунок з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки.

9.9. Внести по 100 мкл розчину порівняння в лунки непарних стрипів та по 100 мкл буферу для дисоціації в лунки парних стрипів. Стрипи заклеїти новою клейкою плівкою та інкубувати при кімнатній температурі (18-25°C) протягом 15 хвилин.

9.10. 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.

9.11. В усі лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату. Стрипи накрити новою клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.

9.12. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в пункті 9.10.

9.13. «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.

9.14. Інкубувати ІФА-планшет протягом 30 хвилин в темному місці при кімнатній температурі 18-25°C.

9.15. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки стрипів по 100 мкл стоп-реагенту, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні розчину ТМБ.

9.16. 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 однохвильовому 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:

Результати аналізу вважати достовірними, якщо:

- оптична густина (ОГ) позитивного контролю ВА в лунці, обробленій РП не нижче 1,5 оптичних одиниць (ОО),
- ОГ позитивного контролю НА в лунці, обробленій РП не нижче 0,8 ОО,
- ОГ негативного контролю не вище 0,15 ОО
- індекс авідності К+ ВА > 40%
- індекс авідності К+ НА < 30%

10.2. Облік результатів аналізу.

Індекс авідності розраховують за формулою:

$$IA = \frac{\hat{I}\tilde{A} \quad \acute{A}\ddot{A}}{\hat{I}\tilde{A} \quad \grave{D}\grave{I}} \times 100\%$$

де, IA – індекс авідності, ОГ БД – оптична густина досліджуваного зразка у лунці з буфером для дисоціації, ОГ РП – оптична густина досліджуваного зразка у лунці з розчином порівняння.

10.3. Інтерпретація результатів.

Для сироваток із значенням ОГ нижче 0,300 ОО в лунці з розчином порівняння індекс авідності не розраховується.

Результати визначення індексу авідності специфічних IgG до *T.gondii* інтерпретують наступним чином:

<i>IA</i>	<i>Результат</i>
< 30 %	зразок містить низькоавідні IgG
30-40%	невизначений результат
> 40 %	зразок містить високоавідні IgG

11. Обмеження аналізу

Виявлення низькоавідних IgG в тест-системі «Vitretest TOXO-IgG Avidity» є свідченням первинної інфекції *T.gondii*.

Виявлення високоавідних IgG в тест-системі «Vitretest TOXO-IgG Avidity» є свідченням паст-інфекції або реінфекції *T.gondii*.

При отриманні невизначених результатів слід повторно дослідити зразок, а в разі отримання знову невизначеного результату – дослідити новий зразок сироватки, отриманий від цього пацієнта в найкоротші терміни.

Для постановки діагнозу слід враховувати як результати лабораторних досліджень, так і клінічні прояви захворювання.

Література

1. Дубинська Г.М., Ізюмська О.М., Козюк П.М. та ін. //Токсоплазмоз. Клініка, діагностика та лікування. // Вести медицини и фармации. – 2003. – №1. – С. 23-25.
2. Desmonts G., Daffos F., Forestier F. et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis // Lancet. – 1985. – Vol. 8427, N1. – P. 500-504.
3. Genum P.A., Stray-Pedersen B., Gundersen A. Improved Diagnosis of Primary Toxoplasma Gondii Infection in Early Pregnancy by Determination Antitoxoplasma Immunoglobulin G Avidity // Journal of Clinical Microbiology. – 1997. – N8 – P. 1972-1977.
4. S.Singh. Mother-to-child transmission and diagnosis of Toxoplasma Gondii infection during pregnancy // Indian Journal of Medical Microbiology. – 2003. – Vol. 21, N2. – P.69-76.
5. Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M. Toxoplasma gondii: from animals to humans // International Journal for Parasitology. – 2000. – №30 – P. 1217-1258.

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 TOXO-IgG Avidity»

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

Підготувати попереднє (1:10) розведення сироваток та контролів: в лунки планшета для попереднього розведення внести по 90 мкл розчину для попереднього розведення зразків (коричнево-зелений) та додати по 10 мкл досліджуваних зразків або контролів. Під час внесення досліджуваних зразків змінюється колір розчину в лунках з коричнево-зеленого на синій.

В паралельні лунки ІФА-планшета внести по 90 розчину для розведення сироваток (жовтий) та додати по 10 мкл розведених 1:10 зразків та контролів:

A1, A2 – позитивний контроль ВА, B1, B2 – позитивний контроль НА,
C1, C2 – негативний контроль, D1, D2 і т.д. – досліджувані зразки

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

Аспірувати вміст лунок

В лунки непарних стрипів внести по 100 мкл розчину порівняння (блакитний), а лунки парних стрипів – по 100 мкл буферу для денатурації (рожевий)

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 15 хв. при 18-25°C

Промити лунки 5 разів розчином для промивання

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

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

Промити лунки 5 разів розчином для промивання

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 індекс авідності IgG до *Toxoplasma gondii* досліджуваних зразків

Провести облік результатів аналізу згідно таблиці

ІА	Результат
< 30 %	зразок містить низькоавідні IgG
30-40%	невизначений результат
> 40 %	зразок містить високоавідні IgG