

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К *TOXOPLASMA GONDII*

1101-1, Toxo IgG

Каталог. № : 1101-1
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 08-28-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	Toxoplasma Gondii IgG ELISA
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Непрямой ИФА: Пластина, покрытая антигенами
Диапазон обнаружения	Количественный: Положительный и Отрицательный контроли
Образец	10 мкл
Специфичность	100 %
Чувствительность	95.3 %
Общее время	~ 60 минут
Срок хранения	14 месяцев от даты производства

**Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание*

НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ

DAI Токсоплазма (Тохо) IgG иммуноферментный анализ (ELISA) предназначен для обнаружения и количественного определения антител IgG к Токсоплазма в сыворотке человека. Данный продукт не утвержден FDA для использования в тестировании (например, скрининге) крови или плазмы доноров. Для **диагностического использования in vitro. Испытание высокой сложности.**

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА (См. оригинал инструкции).

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) основан на способности биологических материалов (например, антигенов) адсорбироваться на пластиковых поверхностях, таких как полистирол (твердая фаза). Когда антигены, связанные с твердой фазой, контактируют с сывороткой пациента, антиген-специфические антитела, если присутствуют, связываются с антигеном твердой фазы с формированием комплексов антиген-антитело. Избыток антител удаляют промыванием. За этим следует добавление козьего антитела к человеческому IgM глобулину, конъюгированному с пероксидазой хрена, который связывается с комплексом антитело-антиген. Избыток конъюгата удаляется промыванием, с последующим добавлением хромогена/субстрата тетраметилбензидина (ТМБ). Если специфические к антигену антитела присутствуют в сыворотке крови пациента, происходит развитие синего цвета. Когда ферментативную реакцию останавливают добавлением 1N H₂SO₄, содержащее лунок меняет цвет на желтый. Цвет, свидетельствующий о концентрации антител в сыворотке, можно считать на подходящем спектрофотометре ELISA или микролуночном планшетном ридере.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Каждый набор содержит следующие компоненты в количестве, достаточном для проведения числа испытаний, указанного на этикетке.

- Микропланшет, покрытый антигеном Токсоплазмы гондии (инактивированный): 96 лунок, 12x8 в пакете из фольги с осушителем. (96Т: одна пластина; 480Т: пять пластин)
- Разбавитель сыворотки Тип 1: Готов к использованию. Содержит ProClin® (0.1 %) в качестве консерванта. (96Т: один флакон, 30 мл; 480Т: два флакона, 60 мл каждый)
- Калибратор: человеческая сыворотка или дефибрированная плазма. Азид натрия (< 0,1%) и пенициллин/стрептомицин (0,01%) добавлены как консерванты, с коэффициентом,

специфичным для конкретного набора, указанным на этикетке флакона. Калибратор используется для калибровки анализа с учетом колебаний температуры и других условий тестирования. (96Т: один флакон, 0.4 мл; 480Т: 0.8 мл)*

- Положительный контроль: человеческая сыворотка или дефибрированная плазма. Азид натрия (< 0,1%) и пенициллин/стрептомицин (0,01%) добавлены как консерванты, с коэффициентом, специфическим для конкретного набора, указанным на этикетке флакона. Положительный контроль используется для контроля положительных значений анализа (96Т: один флакон, 0.4 мл; 480Т: 0.8 мл)*
- Отрицательный контроль: человеческая сыворотка или дефибрированная плазма. Азид натрия (< 0,1%) и пенициллин/стрептомицин (0,01%) добавлены как консерванты, с коэффициентом, специфическим для конкретного набора, указанным на этикетке флакона. Отрицательный контроль используется для контроля отрицательного диапазона анализа (96Т: один флакон, 0.4 мл; 480Т: 0.8 мл)*
- Конъюгат пероксидазы хрена (HRP): Готов к использованию. Козьи анти-человеческие IgG; содержит ProClin® (0.1%) и гентамицин в качестве консервантов. (96Т: один флакон, 16 мл; 480Т: пять флакон, 16 мл каждая)
- Раствор хромогена/субстрата тип I: тетраметилбензидин (ТМБ), готов к использованию. Реагент должен оставаться закрытым, когда он не используется. При испарении может образоваться осадок в лунках. (96Т: один флакон, 15 мл; 480Т: 5 флаконов, 15 мл каждый)
- Промывочный буфер тип I (20X концентрат): разбавьте 1 часть концентрата + 19 частей деионизированной или дистиллированной воды. Содержит TBS, Твин-20 и ProClin® (0.1 %) в качестве консерванта. (96Т: одна бутылка, 50 мл; 480Т: одна бутылка, 250 мл)
- Стоп-раствор: Готов к использованию, содержит 1 N раствора H₂SO₄. (96Т: одна бутылка, 15 мл; 480Т: 5 бутылок, 15 мл)

***Примечание: флаконы с сывороткой могут содержать избыточный объем.**

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ

- Промывалка, автоматизированное или полуавтоматическое устройство для промывания.
- Дозаторы, включая многоканальные, со способностью точного пипетирования объемов 10-200 мкл (менее 3% CV).
- Мерный цилиндр на 1 литр.
- Бумажные полотенца.
- Пробирка для разбавления сыворотки.
- Реагентные резервуары для многоканальных пипеток.
- Наконечники для пипеток.
- Дистиллированная или деионизированная вода (dH₂O), CAP (College of American Pathology) типа 1 или эквивалент.
- Таймер с точностью измерения ±1 секунда (0 - 60 минут).
- Ёмкости для утилизации и 0.5% гипохлорит натрия (50 мл отбеливателя в 950 мл dH₂O).
- Микропланшетный считыватель с одной или двумя длинами волн с фильтром 450 нм. Если используется двойная волна, установите фильтр на 600-650 нм. Внимательно прочтите инструкцию по эксплуатации или свяжитесь с изготовителем прибора, чтобы установить линейную спецификацию считывателя.

Примечание: Используйте только чистую, сухую стеклянную посуду.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить закрытый набор при 2-8 °С. Набор может использоваться на протяжении всего срока годности, указанного на этикетке.
- Запечатанные пластины должны храниться при температуре 2-8 °С. Неиспользованные стрипы немедленно запечатать в герметичный мешок с осушителем и вернуть на хранение при 2-8 °С.
- Хранить конъюгат HRP при 2-8 °С.
- Хранить калибратор, положительный и отрицательный контроли при 2-8 °С.
- Хранить Разбавитель сыворотки Plus и 20X Промывочный буфер тип 1 при 2-8 °С.
- Хранить Растворы хромогена/субстрата типа 1 при 2-8 °С. Реагент должен оставаться закрытым, когда он не используется. При испарении может образоваться осадок в лунках.
- Хранить 1X (разбавленный) Промывочный буфер тип 1 при комнатной температуре (21-25 °С) на срок до 5 дней или до 1 недели от 2-8 °С.

Примечание: Если поддерживается постоянная температура хранения, реагенты и субстрат будут стабильны до окончания срока

годности набора. См. на этикетке упаковки срок годности. Меры предосторожности были приняты при производстве этого продукта для защиты реагентов от загрязнения, и бактериостатические агенты были добавлены к жидким реагентам. Следует проявлять осторожность, чтобы защитить реагенты этого набора от загрязнения.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для использования in-Vitro.
2. Компоненты человеческой сыворотки данного набора использованные в подготовке контролей и калибратора были проверены методом, одобренным FDA на наличие антител к человеческому вирусу иммунодефицита 1 и 2 (ВИЧ 1&2), гепатиту С (HCV) также к поверхностному антигену гепатита В, при этом был получен отрицательный результат. Поскольку никакой метод проверки не может обеспечить полной уверенности в отсутствии ВИЧ, вируса гепатита С, В или других возбудителей инфекций, с образцами и реагентами человеческого происхождения необходимо обращаться как со способными передавать возбудители инфекций.
3. Центры контроля болезней и их предотвращения, также Национальные институты здоровья рекомендуют обращаться с потенциальными возбудителями инфекций при соблюдении 2 уровня биоопасности.
4. Компоненты этого набора были проверены на контроль качества как контрольная единица партии набора. Не смешивать компоненты из различных номеров партий раствора хромогена/субстрата тип I, стоп раствора и промывочного буфера тип I. Не смешивать компонентами от других изготовителей.
5. Не использовать реагенты по истечении срока годности, отмеченного на этикетке упаковки.
6. Все реагенты должны быть при комнатной температуре (21 - 25°C) перед выполнением анализа. Извлечь только объем реагентов, который необходим. **Не переливать реагенты назад во флаконы, поскольку может произойти загрязнение реагента.**
7. Перед открытием флаконов с контролем и калибратором, резко ударить планшетом по твердой поверхности, чтобы убедиться, что вся жидкость находится на дне флакона.
8. Использовать только дистиллированную или деионизированную воду и чистую стеклянную посуду.
9. Не позволять высыхать лункам во время анализа; добавлять реагенты немедленно после завершения этапов промывки.
10. Избегать перекрестного загрязнения реагентов. Мыть руки до и после работы с реагентами. **Перекрестное загрязнение реагентов и/или образцов может вызвать ошибочные результаты.**
11. При выполнении этапов промывки вручную, лунки должны быть промыты 3 раза. Может потребоваться до 5 циклов промывки, если используется автоматизированное промывочное оборудование.
12. **Азид натрия подавляет активность конъюгата. Для добавления конъюгата необходимо использовать чистые наконечники для пипеток, чтобы избежать переноса азид натрия из других реагентов.**
13. Было установлено, что азид натрия может взаимодействовать со свинцом и медью в трубопроводах, образуя взрывчатые компоненты. При утилизации промывать канализацию водой, чтобы минимизировать нагромождение компоненты металлов азида.
14. Никогда не пипетировать ртом и не позволять реагентам или образцам пациентов вступать в контакт с кожей. Реагенты, содержащие Проклин, азид натрия, и ТМВ могут быть раздражающими. Избегать контакта с кожей и глазами. В случае контакта, промыть большим количеством воды.
15. При использовании раствора гипохлорита (отбеливающего вещества) как дезинфицирующего средства, не использовать его во время фактического проведения анализа из-за потенциального влияния на ферментативную активность.
16. Избегать контакта стоп раствора (1N серной кислотой) с кожей или глазами. При контакте немедленно промыть область водой.
17. **Предостережение:** Жидкие отходы при кислотном pH должны быть нейтрализованы до добавления гипохлорита натрия (отбеливающего вещества), чтобы избежать образования ядовитого газа. Рекомендуется утилизировать отработанные планшеты в биобезопасные пакеты. См. Предосторожность 3.
18. Концентрации анти-Токсоплазмы в определенном образце, определяемые наборами анализов от разных производителей, могут варьировать исходя из различий методах анализа и специфичности реагентов.

Паспорт безопасности предоставляется по запросу.

Внимание: Некоторые реагенты содержат ProClin ® на уровне 0,1%

Xi – Раздражающее вещество

R43: Может вызвать раздражение на коже.

S28-37: При попадании на кожу немедленно промыть большим количеством воды и мыла. Носить подходящие перчатки.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Следует обращаться с кровью и сывороткой как со способными передавать носители инфекций.
2. Оптимальная эффективность набора зависит от использования свежих образцов сыворотки (чистых, не гемолизированных, не липемических, не иктерических). При необходимости проведения повторного анализа, минимально рекомендуемый объем – 50 мкл. Образцы должны быть собраны асептически венопункцией. Предварительное отделение от сгустка предотвращает гемолиз сыворотки.
3. Хранить сыворотку при 2-8 °С, если анализ будет проводиться в течение 2 дней. При более длительном хранении образцов, хранить их -20 °С или ниже. Избегать использования не намораживающего холодильника, поскольку он может привести к деградации антител из-за циклов замораживания-размораживания. Неправильно хранящиеся образцы или поддавшиеся множественным циклам замораживания-размораживания могут выдать ошибочные результаты.
4. Если парные сыворотки должны быть собраны, образцы в острой форме заболевания должны быть собраны как можно скорее после появления симптомов. Второй образец должен быть собран от 14 до 21 дней после взятия образца в острой форме. Оба образца должны быть проанализированы в двух экземплярах на том же планшете, чтобы проверить значительный рост. Если первый образец получен поздно в ходе инфекции, значительный рост не может быть установлен.
5. Рекомендуется хранить образцы в соответствии с рекомендациями NCCLS (Утвержденными стандартными процедурами по обращению и обработке образцов крови, H18-A. 1990).

МЕТОДЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Подготовка к анализу

1. Извлеките все реагенты из холодильника и перед использованием позвольте им нагреться до комнатной температуры (21-25°C). Немедленно возвратите все реагенты в холодильник после использования.
2. Перед использованием все образцы и контроли необходимо встряхнуть и перемешать.
3. Разбавить 50 мл промывочного буфера (20x) тип I до 1л дистиллированной и/или деионизированной водой. Хорошо перемешать.

Процедура анализа

Примечание: Для оценки парных сывороток, оба образца сыворотки должны быть проверены в двух экземплярах и на одном планшете. Рекомендуется, чтобы образцы парной сыворотки анализировались в соседних лунках.

1. Поместите желаемое количество полосок в рамку для микролунок. Проведите 4 определения контроля/калибратора (одного отрицательного контроля, двух калибраторов и одного положительного контроля) на процедуру. Бланк реагент (БР) должен применяться в каждом анализе. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильной конфигурации контролей/калибраторов. Возвратите неиспользованные полоски в запечатывающийся мешочек с осушителем, герметично закройте и возвратите на хранение при 2-8°C.

Пример:

Plate Location	Sample Description	Plate Location	Sample Description
1A	RB	2A	Patient #4
1B	NC	2B	Patient #5
1C	Cal	2C	Patient #6
1D	Cal	2D	Patient #7
1E	FC	2E	Patient #8 (Acute 1)
1F	Patient #1	2F	Patient #8 (Acute 2)
1G	Patient #2	2G	Patient #8 (Convalescent 1)
1H	Patient #3	2H	Patient #8 (Convalescent 2)

RB = Бланк реагент - Лунка без добавления сыворотки при анализе со всеми реагентами. Используется для обнуления считывателя.

NC = Отрицательный контроль

Cal = Калибратор

PC = Положительный контроль

2. Разведите анализируемые сыворотки, калибратор и контрольные сыворотки 1:21 (например: 10 мкл + 200 мкл) в Растворителе для Сыворотки. (При ручном разбавлении рекомендуется внести сначала разбавитель образца в пробирку для анализа и затем добавить сыворотку пациента).

- В отдельные лунки добавьте 100 мкл разбавленных сывороток пациентов, Калибратора и контрольных сывороток. Добавьте 100 мкл разбавителя сыворотки в лунку бланк реагента. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильных конфигураций лунки бланка реагента.
- Инкубируйте каждую лунку при комнатной температуре (21-25°C) в течение **25 +/- 5 минут**.
- Аспирируйте или вытряхните жидкость из всех лунок. При использовании или полуавтоматизированной или автоматизированной промывочной установки, внесите 250-300 мкл разбавленного промывочного буфера в каждую лунку. Извлеките микротитровальный планшет из промывателя, переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора. Повторите процедуру промывки 2 раза (в общем количестве 3 промывки) для полуавтоматизированного оборудования или 4 раза (в общем количестве 5 промывок) для автоматизированного оборудования. После конечной промывки вытряхните планшет на бумажное полотенце. Чтобы удалить всю жидкость из лунок.
****ВАЖНОЕ ЗАМЕЧАНИЕ:** Относительно этапов 5 и 8 - недостаточная или чрезмерная промывка приводит к вариациям анализа и воздействует на достоверность результатов. Поэтому, для лучших результатов рекомендуется использование полуавтоматического или автоматизированного набора оборудования для распределения объема, чтобы полностью заполнить лунку (250-300 мкл). В общем количестве может потребоваться 5 промывок при использовании автоматизированного оборудования. **Полное удаление промывочного буфера после конечной промывки крайне важно для точности выполнения анализа. Также, визуально убедитесь, что в лунках отсутствуют пузырьки.**
- Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую лунку, включая лунку бланк реагента. Избегайте образования пузырьков после добавления, так как они могут вызвать ошибочные результаты.
- Инкубируйте каждую лунку при комнатной температуре (21-25°C) в течение **25 +/- 5 минут**.
- Повторите промывку как описано в этапе 5.
- Добавьте 100 мкл раствора хромогена/субстрата (ТМВ) в каждую лунку, включая лунку бланк реагента, придерживаясь равномерного темпа при добавлении в планшет.
- Инкубируйте планшет при комнатной температуре (21-25°C) в течение **10-15 минут**.
- Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку, включая лунку бланка, в том же темпе и порядке как добавлялся ТМВ. Постучите по планшету вдоль краев, чтобы перемешать содержимое лунок. Планшет может оставаться в течение 1 часа после добавления стоп раствора перед считыванием.
- Образовавшийся окрас необходимо считать на ИФА считывателе при 450. При использовании двойной волны считывания настройте референтный фильтр длины волны на 600-650 нм. Инструмент необходимо настраивать в рабочем режиме. Бланк реагент должен быть менее чем 0,150 абсорбции при 450 нм. Если бланк реагент составляет ≥ 0.150 , процедуру необходимо повторить. Настройте считыватель на лунке бланк реагента и затем продолжайте считывание всего планшета. Уничтожьте использованные планшеты после получения результатов считывания.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для того, чтобы анализ считался действительным, необходимо учесть следующие условия:

- Калибратор и контроли должны использоваться в каждой процедуре анализа.
- Бланк реагент (при считывании против пустого бланка) должен составлять < 0.150 абсорбции (A) при 450 нм.
- Отрицательный контроль должно быть ≤ 0.250 A при 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Каждый Калибратор должен быть ≥ 0.250 A при 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Положительный контроль должен быть ≥ 0.500 A 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Значения **ISR** (Коэффициента иммунного состояния) для положительного и отрицательного контролей должны быть в их соответствующих диапазонов, напечатанных на флаконах. Если значения контроля вне пределов их соответствующих диапазонов, анализ должен рассматриваться как недействительный и должен быть повторен.
- Дополнительные контроли могут анализироваться в соответствии с указаниями или требованиями местных, государственных и/или федеральных законов или аккредитованных учреждений.

- За рекомендациями соответствующей практики контроля качества смотрите документ C24A NCCLS.
- Если все указанные выше критерии не достигнуты после повторного анализа, обратитесь к техническим службам компании-производителя.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Вычисления

- ОП (оптическая плотность) среднего калибратора – вычислите среднее значение ОП для калибратора от двух определений калибратора.
- Поправочный коэффициент – для отчета ежедневных отклонений в работе анализа, относящихся к комнатной температуре и времени. Поправочный коэффициент определяется компанией-производителем для каждой партии наборов. Поправочный коэффициент печатается на флаконе калибратора.
- Предельное значение калибратора - Значение калибратора исключения для каждого анализа определяется умножением поправочного коэффициента на среднюю ОП калибратора, определяемое в этапе 1.
- Значение ISR – Вычислите коэффициент иммунного состояния (ISR) для каждого образца разделив значение ОП образца на значение калибратора исключения, определяемый в этапе 3.

Пример:

Полученная ОП калибратора	= 0.38, 0.42
Средняя ОП калибратора	= 0.40
Поправочный коэффициент	= 0.50
Значение калибратора исключения	= $0.50 \times 0.40 = 0.20$
ОП, полученная от сывороток пациентов	= 0.60
Значение ISR	= $0.60/0.20 = 3.00$

Анализ

- Значения ISR (коэффициента иммунного состояния) пациентов:

ISR	Результаты	Интерпретация
≤ 0.90	Отрицат.	Не обнаруживаются антитела к Токсоплазма с помощью данного теста. Данные пациенты, предположительно, не инфицированы <i>Toxoplasma Gondii</i> и восприимчивы к первичной инфекции. Образцы тестировать повторно. См. пункт 3 ниже.
0.91 – 1.09	Сомнит.	Указывает на наличие антител к обнаруживаемым антителам Токсоплазма. Указывает на текущее или прошлое инфицирование. Пациент может быть подвержен риску передачи инфекции Токсоплазма, но не обязательно в настоящее время заразен.
≥ 1.10	Положит.	Указывает на наличие антител к обнаруживаемым антителам Токсоплазма. Указывает на текущее или прошлое инфицирование. Пациент может быть подвержен риску передачи инфекции Токсоплазма, но не обязательно в настоящее время заразен.

- Образцы, которые остаются сомнительными после повторного тестирования, должны быть протестированы альтернативным методом, например, иммунофлюоресценции (IFA). Если результаты остаются сомнительными после дальнейшего тестирования, дополнительные образцы должны быть собраны. (См. Ограничение 4).
- При оценке парных сывороток, если образец в острой форме отрицательный и в стадии выздоровления положительный, сероконверсия имела место. Это указывает на значительное изменение уровня антител и пациент проходит первичное инфицирование.
- Для оценки сыворотки на значительное изменение уровня антител или сероконверсии, образцы должны быть протестированы в двух экземплярах в том же анализе. Среднее ISR обоих образцов (острая и выздоравливающая формы) должно быть больше, чем 1.00 для оценки сыворотки на значительное повышение уровня антител.
- Дополнительный контроль качества парных сывороток: (См. примечание к процедуре исследования). В качестве проверки для приемлемой воспроизводимости как острых образцов сыворотки (тестируемых в двух экземплярах), так и выздоравливающих образцов сыворотки (тестируемых в двух экземплярах), следующие критерии должны быть соблюдены для достоверных результатов:

$\frac{\text{Acute 1 ISR} = 0.8 \text{ to } 1.2}{\text{Acute 2 ISR}}$	$\frac{\text{Convalescent 1 ISR} = 0.8 \text{ to } 1.2}{\text{Convalescent 2 ISR}}$
-----------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

- Сравните ISR парных сывороток как показано ниже:

$$\frac{\text{Mean ISR (second sample)} - \text{Mean ISR (first sample)}}{\text{Mean ISR (first sample)}} \times 100 = \% \text{ RISE IN ISR LEVEL}$$

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ МЕЖДУНАРОДНЫХ ЕДИНИЦ

Реактивность Международных Единиц (МЕд) определяется по отношению к стандарту МЕд. Преобразование Значений Коэффициента в Международные Единицы осуществляется с помощью экспоненциально регрессионного анализа. Каждая партия стандартизирована по отношению к Международным Единицам и обеспечивается таблицей преобразования для каждой партии (Преобразование Международных Единиц (МЕд) в мл для *Toxoplasma IgG*). Например:

ISR	МЕд
1.0	19.5
1.5	35
2.0	62
2.5	111

См. Приложение с таблицей преобразования для определенной партии.

% Рост ISR

< 30.0 %

Интерпретация

Нет значительного изменения уровня антител. Нет данных о недавно перенесенной инфекции. Если активная болезнь по-прежнему подозревается, третий образец должен быть собран и испытан в том же анализе, что и первый образец, для определения значительного роста уровня антител.

> 30.0 %

Статистически значимое изменение уровня антител обнаружено. Это определяет тех лиц, которые, как предполагают, проходят недавнее или текущее инфицирование *Toxo* (реактивация, повторное инфицирование или первичное инфицирование, где острый образец был получен слишком поздно, чтобы продемонстрировать сероконверсию).

Примечание: При оценке парных сывороток необходимо определить, находятся ли образцы с высокими значениями поглощений в пределах линейных характеристик спектрофотометра. Внимательно прочтите инструкцию по эксплуатации или обратитесь к производителю для получения установленных характеристик линейности вашего спектрофотометра.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

- Использовать свежие образцы сыворотки или образцы, замороженные только один раз и оттаянные при 37 °C. Образцы, которые неправильно хранились, или подвергались нескольким циклам замораживания-оттаивания, могут дать ложные результаты.
- Пользователю этого набора рекомендуется тщательно прочитать и понять инструкцию. Строгое следование протоколу необходимо для получения достоверных результатов анализа. В частности, корректное пипетирование образца и реагента, а также тщательная промывка и время инкубации являются критическими для получения надежных результатов.
- Этот набор предназначен для измерения IgG антител в образцах пациента. Положительные результаты у новорожденных следует интерпретировать с осторожностью, поскольку материнские IgG пассивно передаются от матери к плоду до рождения. Анализ IgM, как правило, являются более полезными показателями инфекции у детей до 6-месячного возраста.
- Пробы, взятые в самом начале хода развития инфекции, возможно, не покажут обнаруживаемых уровней IgG. В таких случаях рекомендуется выполнение IgM анализа, или второй образец сыворотки должен быть получен позднее для одновременного тестирования с исходной пробой для определения сероконверсии.
- Результаты иммунологических анализов, проведенных на образцах сывороток, взятых у пациентов с ослабленным иммунитетом, должны интерпретироваться с осторожностью. Присутствие антител IgG к конкретному вирусу или организму не может гарантировать защиту от этой болезни. Например, случаи реактивации инфекции *Toxoplasma gondii* у лиц с ослабленным иммунитетом были задокументированы. Или же у некоторых лиц были обнаружены такие низкие уровни циркулирующих IgG, что они могут быть отрицательными к этим антителам при испытании.
- Образцы, которые остаются сомнительными после повторного тестирования, должны быть протестированы ещё раз альтернативным методом, например, иммунофлюоресценции (IFA). Если результаты остаются сомнительными после дальнейшего тестирования, дополнительные образцы должны быть взяты.

- Результаты этого теста должны интерпретироваться врачом с учетом других клинических данных и диагностических процедур.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность

В общей сложности 106 образцов случайно отобранного населения были проверены набором DAI Токсоплазма IgG ELISA и имеющимся в продаже набором Токсоплазма IFA. Полное соглашение было найдено для 101 образца, из которых 63 (62%) были отрицательными и 38 (38%) были положительными. Пять образцов были найдены отрицательными при анализе с набором DAI ИФА и положительными (1:16, 1:16, 1:32, 1:32, 1:32) с набором IFA. Эти данные показывают 95.3 % чувствительности и 100 % специфичности 100% при сравнении DAI Токсоплазма IgG ELISA с IFA. При дальнейшем тестировании альтернативным методом в качестве рефери, все пять образцов были получены отрицательными.

Сорок семь из 106 образцов были также сравнены с другими коммерчески доступными наборами Токсоплазма IgG ELISA. Полная согласованность была найдена для двадцати двух образцов, которые были положительными, и двадцати четырех образцов, которые были отрицательными. Один образец был положительным с DAI ИФА и отрицательным с другим набором ELISA. После дальнейшего тестирования с коммерчески доступным набором Токсоплазма IgG IFA, используемым в качестве арбитражного метода, образец был подтвержден положительным.

Десять парных сывороток (двадцать образцов), были оценены с помощью набора DAI *Toxoplasma gondii* IgG IFA, другого коммерчески доступного набора IFA и имеющегося в продаже набора Токсоплазма IFA. Каждая пара была взята у пациентов, диагностированных с инфекцией *Toxoplasma gondii*. Шесть были положительными по сероконверсии (отрицательный для острого образца, и положительный для выздоравливающего) и четыре были положительными на обе формы, острую и выздоравливающую. Все десять пар показали значительный рост уровня антител. Полная согласованность, 100% чувствительности, была установлена для пар по сравнению с другими тестами ELISA и IFA.

Воспроизводимость

Три исследования были проведены для оценки точности результатов анализа ТМВ. Пять сывороток использовали в 20 лунках каждая, начиная с отрицательной до высоко положительной для определения воспроизводимости внутри анализа. Пять сывороток использовали в течение 5 дней в 5 лунках в диапазоне от отрицательной до высоко положительной для определения воспроизводимости между анализами в разные дни. Пять сывороток использовали в 3 лунках каждую, начиная с отрицательной до высоко положительной с 3 разными партиями субстрата ТМВ. Результаты приведены в таблицах ниже:

Таблица 1
Точность в пределах анализа

	Serum1	Serum 2	Serum 3	Serum 4	Serum 5
Mean =	1.425	4.275	3.239	0.318	0.182
S.D. =	0.107	0.087	0.187	0.023	0.016
C.V. =	7.5%	2.0%	5.8%	7.2%	8.7%

Таблица 2
Точность в пределах анализа

	Serum1	Serum 2	Serum 3	Serum 4	Serum 5
Mean =	1.644	5.632	4.223	0.406	0.286
S.D. =	0.191	0.414	0.273	0.058	0.015
C.V. =	11.6%	7.4%	6.5%	14.4%	5.4%

Таблица 3
Точность в пределах анализа

	Serum1	Serum 2	Serum 3	Serum 4	Serum 5
Mean =	1.81	6.40	4.565	0.39	0.266
S.D. =	0.22	0.347	0.322	0.063	0.062
C.V. =	12.1%	5.4%	7.0%	16.2%	23.3%

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ МЕЖДУНАРОДНЫХ ЕДИНИЦ

Данные таблицы 4 показывают ISR значения *Toxoplasma IgG* для серийно разведенного стандарта международных единиц, полученные Всемирной Организацией Здравоохранения. ISR значения *Toxoplasma IgG* сравнивали со стандартом Мед серийно разведенных сывороток с помощью линейной регрессии (экспоненциальной регрессии).

Данные показывают, что Международные Единицы могут быть определены из значений ISR.

Таблица 4
Преобразование Международных Единиц

International Unit Standard Units / mL	ISR Value
500	3,8
250	3,2
125	2,6
62.5	2,0
31.3	1,4
15.6	0,8

Линейная регрессия сравнения значений ISR и Международных Единиц.

$$r^2 = 0.995 \quad a = 0.864 \quad b = 1.566 \quad Y = \text{ISR} \quad X = \text{IU} / \text{mL}$$

Экспоненциальное уравнение регрессии

$$X = \frac{(y+b)}{a} \quad e^x = \text{derived IU} / \text{mL}$$



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com