

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgM K TOXOPLASMA GONDII

## 1102-1, Toxo IgM

Каталог. № : 1102-1  
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 IgM 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	100 %
Общее время	~ 75 минут
Срок хранения	12-14 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

Настоящий набор предназначен для предполагаемого качественного обнаружения IgM антител к Токсоплазме в сыворотке крови человека для предположительного диагноза острой, протекающей, или реактивной инфекции Toxoplasma. Тестирование сывороток пациентов должно выполняться в сочетании с анализом антител IgG анти-Токсоплазма. Данный продукт не утвержден FDA для использования в тестировании (например, скрининге) крови или плазмы доноров. Анализ не предназначен для скрининга беременных женщин или новорожденных. **Тест 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 присутствует, 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 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.

1. Микропланшет, покрытый очищенным антигеном Токсоплазмы гондии: 96 лунок, 12x8 в пакете из фольги с осушителем. Привести лунки к комнатной температуре (21-25 °C) для защиты от образования конденсата. При хранении при температуре 2-8 °C покрытые полоски стабильны до срока

годности, указанного на этикетке. (96Т: одна пластина; 480Т: пять пластин)

2. Калибратор: человеческая сыворотка или дефибринированная плазма. Азид натрия (< 0,1%) и пенициллин/стрептомицин (0,01%) добавлены как консерванты, с коэффициентом, специфическим 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)\*
3. Положительный контроль: человеческая сыворотка или дефибринированная 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)\*
4. Отрицательный контроль: человеческая сыворотка или дефибринированная 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)\*
5. Конъюгат пероксидазы хрена (HRP): Готов к использованию. Козьи анти-человеческие IgM; содержит ProClin® (0.1%) и гентамицин в качестве консервантов. (96Т: одна бутылка, 16 мл; 480Т: пять бутылок, 16 мл каждая)
6. Разбавитель сыворотки плюс: Готов к использованию. Содержит козы/овечьи анти-человеческие IgG для впитывания сыворотки для удаления конкурирующего IgG; со стабилизаторами белка и ProClin® (0.1 %) в качестве консерванта. (96Т: две бутылки, 45 мл каждая; 480Т: две бутылки, 225 мл каждая)
7. 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)
8. 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: одна бутылка, 15 мл; 480Т: 5 бутылок, 15 мл)
9. Стоп-раствор: Готов к использованию, содержит 1 N раствора H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. (96Т: одна бутылка, 15 мл; 480Т: 5 бутылок, 15 мл)

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

### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ

1. Промывалка, автоматизированное или полуавтоматическое устройство для промывания.
2. Дозаторы, включая многоканальные, со способностью точного пипетирования объемов 10-200 мкл (менее 3% CV).
3. Мерный цилиндр на 1 литр.
4. Бумажные полотенца.
5. Пробирки для разбавления сыворотки.
6. Реагентные резервуары для многоканальных пипеток.
7. Наконечники для пипеток.
8. Дистиллированная или деионизированная вода (dH<sub>2</sub>O), CAP (College of American Pathology) типа 1 или эквивалент.
9. Таймер с точностью измерения ±1 секунда (0 - 60 минут).
10. Ёмкости для утилизации и 0.5% гипохлорит натрия (50 мл отбеливателя в 950 мл dH<sub>2</sub>O).
11. 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

1. Хранить закрытый набор при 2-8 °C. Набор может использоваться на протяжении всего срока годности, указанного на этикетке.
2. Запечатанные пластины должны храниться при температуре 2-8 °C. Неиспользованные стрипы немедленно запечатать в герметичный мешок с осушителем и вернуть на хранение при 2-8 °C.
3. Хранить конъюгат HRP при 2-8 °C.
4. Хранить калибратор, положительный и отрицательный контроли при 2-8 °C.

- 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. Не использовать реагенты, если есть признаки микробного загрязнения или наблюдается осадок.

## ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для использования in-Vitro.
- 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.
- Центры контроля болезней и их предотвращения, также Национальные институты здоровья рекомендуют обращаться с потенциальными возбудителями инфекций при соблюдении 2 уровня биоопасности.
- 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.
- Не использовать реагенты по истечении срока годности, отмеченного на этикетке упаковки.
- Все реагенты должны быть при комнатной температуре (21 - 25°C) перед выполнением анализа. Извлекать только объем реагентов, который необходим. **Не переливать реагенты назад во флаконы, поскольку может произойти загрязнение реагента.**
- Перед открытием флаконов с контролем и калибратором, резко ударить планшетом по твердой поверхности, чтобы убедиться, что вся жидкость находится на дне флакона.
- Использовать только дистиллированную или деионизированную воду и чистую стеклянную посуду.
- Не позволять высыхать лункам во время анализа; добавлять реагенты немедленно после завершения этапов промывки.
- Избегать перекрестного загрязнения реагентов. Мыть руки до и после работы с реагентами. **Перекрестное загрязнение реагентов и/или образцов может вызвать ошибочные результаты.**
- При выполнении этапов промывки вручную, лунки должны быть промыты 3 раза. Может потребоваться до 5 циклов промывки, если используется автоматизированное промывочное оборудование.
- Азид натрия подавляет активность конъюгата. Для добавления конъюгата необходимо использовать чистые наконечники для пипеток, чтобы избежать переноса азид натрия из других реагентов.**
- Было установлено, что азид натрия может взаимодействовать со свинцом и медью в трубопроводах, образуя взрывчатые компоненты. При утилизации промыть канализацию водой, чтобы минимизировать нагромождение компоненты металлов азид.
- 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.
- При использовании раствора гипохлорита (отбеливающего вещества) как дезинфицирующего средства, не использовать его во время фактического проведения анализа из-за потенциального влияния на ферментативную активность.
- Избегать контакта стоп раствора (1N серной кислотой) с кожей или глазами. При контакте немедленно промыть область водой.

- 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.
- 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

- Следует обращаться с кровью и сывороткой как со способными передавать носители инфекций.
- 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.
- Хранить сыворотку при 2-8°C, если анализ будет проводиться в течение 2 дней. При более длительном хранении образцов, хранить их -20°C или ниже. Избегать использования не замораживающего холодильника, поскольку он может привести к деградации антител из-за циклов замораживания-размораживания. Неправильно хранящиеся образцы или подававшиеся множественным циклом замораживания-размораживания могут выдать ошибочные результаты.
- 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

- 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.
- Перед использованием все образцы и контроли необходимо встряхнуть и перемешать.
- Разбавить 50 мл промывочного буфера (20x) тип I до 1л дистиллированной и/или деионизированной водой. Хорошо перемешать.

### Обращение с Сывороткой

Твердофазные иммуноанализы по определению вирус-специфических IgM, как известно, являются чувствительными к интерферирующим факторам. Античеловеческие IgG козы/овцы в Сывороточном Разбавителе Plus уменьшают конкурирующие вирус-специфические IgG, которые будут отвечать за ложную негативную реакцию. Ложные положительные результаты аналогичным образом минимизируются путем удаления IgG, таким образом нейтрализуя связанный ревматоидный фактор в образцах.

### Процедура анализа

- 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 правильных конфигураций контролей/cut-off-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	PC	2E	Patient #8
1F	Patient #1	2F	Patient #9
1G	Patient #2	2G	Patient #10
1H	Patient #3	2H	Patient #11

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

считывателя.

NC = Отрицательный контроль  
Cal = Калибратор  
PC = Положительный контроль

- Разведите анализируемые сыворотки, калибратор и контрольные сыворотки 1:81 (например: 10 мкл + 800 мкл) в Растворителе для Сыворотки Плюс. При ручном разбавлении рекомендуется внести сначала разбавитель образца в пробирку для анализа и затем добавить сыворотку пациента. Хорошо перемешать (рекомендуется вихревой миксер).
- 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 **30 +/- 2 минуты**.
- Аспирировать или вытряхнуть жидкость из всех лунок. При использовании 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. Избегать образования пузырьков после добавления, так как они могут вызвать ошибочные результаты.
- Инкубируйте каждую лунку при комнатной температуре (21-25°C) в течение **30 +/- 2 минуты**.
- 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 **15 минут ± 2 минуты**.
- 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  $\geq 0.150$ , 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  $\leq 0.250$  A при 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Каждый Калибратор должен быть  $\geq 0.300$  A при 450 нм (при считывании против бланк реагента).
- Положительный контроль должен быть  $\geq 0.250$  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, 0.40, 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

ISR	Результаты
$\leq 0.90$	Отрицательный
0.91 – 1.09	Сомнительный
$\geq 1.10$	Положительный

- Значения ISR (коэффициента иммунного состояния) пациентов:

Результат Анти-Т. Gondii IgM	Результат Анти-Т. Gondii IgG	Интерпретация
Отрицат. $\leq 0.90$	Отрицат. $\leq 0.90$	Предполагается, что пациент не был инфицирован и не находится в острой фазе инфицирования Токсоплазма. Если симптомы не исчезнут, взять новый образец в течение трех недель.
Отрицат. $\leq 0.90$	Положит. $\geq 1.10$	Из этого теста нельзя определить, переживает ли пациент повторное инфицирование инфекцией Тохорlasma гондии. Подозревается, что пациент был инфицирован инфекцией Токсоплазма более одного года назад.
Отрицат. $\leq 0.90$	Сомнит. 0.91-1.09	Получить новый образец для дальнейшего тестирования. Пациент, предположительно, не в острой форме инфицирования. Определить, инфицирован ли пациент недавно, невозможно.
Сомнит. 0.91-1.09	Отриц. $\leq 0.90$	Взять новый образец для определения антител IgM. Невозможно определить, находится ли пациент в острой стадии инфицирования. Предположительно, пациент не был ранее инфицирован Тохорlasma gondii. Если новый образец положительный или сомнительный, отправить его в референтную лабораторию для дальнейших тестов.
Сомнит. 0.91-1.09	Положит. $\geq 1.10$	Взять новый образец для определения антител IgM. Невозможно определить, находится ли пациент в острой стадии инфицирования, или был ранее инфицирован. Предположительно,

		пациент был ранее инфицирован <i>Toxoplasma gondii</i> . Если новый образец сомнительный или положительный, отправить его в референтную лабораторию для дальнейших тестов.
Сомнит. 0.91-1.09	Сомнит. 0.91-1.09	Получить новый образец для дальнейшего тестирования. Невозможно определить, находится ли пациент в острой стадии инфицирования, или был ранее инфицирован. Если новый образец сомнительный или положительный на антитела IgM, отправить его в референтную лабораторию для дальнейших тестов.
Положит. ≥ 1.10	Отрицат. ≤ 0.90	Получить новый образец для дальнейшего тестирования. Пациент, вероятно, инфицирован. Так как антитела IgG отрицательные, образец, скорее всего, был получен слишком рано для точного определения. Тестировать образец повторно с использованием другого анализа. Если результат с новым образцом остается положительным на антитела IgM, образец отправить его в референтную лабораторию для дальнейших тестов.
Положит. ≥ 1.10	Положит. ≥ 1.10	Пациент, вероятно, инфицирован. Получить новый образец для дальнейшего тестирования. Так как антитела IgG положительные, пациент, предположительно, в острой стадии инфицирования. Тестировать образец повторно с использованием другого анализа. Если результат с новым образцом остается положительным на антитела IgM и IgG, образец отправить его в референтную лабораторию для дальнейших тестов.
Положит. ≥ 1.10	Сомнит. 0.91-1.09	Невозможно определить, находится ли пациент в острой стадии инфицирования. Получить новый образец для дальнейшего тестирования. Невозможно определить, был ли пациент ранее инфицирован. Образец, скорее всего, был получен слишком рано для точного определения. Тестировать новый образец повторно с использованием другого анализа. Если результат с новым образцом остается положительным на антитела IgM и положительным/отрицательным/сомнительным на антитела IgG, образец отправить его в референтную лабораторию для дальнейших тестов.

2. Величина измеренного результата, выше предельного, не является показателем общего количества антител, которые присутствуют.
3. Если образец был собран слишком рано в ходе болезни, IgM антитела могут быть не обнаружены. IgM антитела также могут не определяться при реактивации инфекции.
4. Предельное значение было определено путем анализа известных положительных и отрицательных сывороток и выбора значения Cut-off, которое наилучшим образом подходит для относительной чувствительности и специфичности.

#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

IgM антитела появляются в первую неделю инфекции и обычно достигают максимума в течение месяца. Очень редко, но низкие уровни IgM могут сохраняться в течение 1 года или дольше. Ежегодные показатели заболеваемости, как сообщается, могут отличаться в различных географических районах от 0.1 % до 0.9 %.

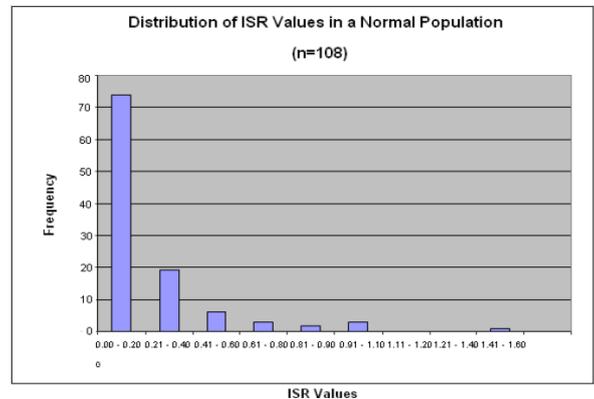
В общей сложности было проанализировано 108 случайных образцов из центров забора крови. Таблица 1-А обобщает распределение значений *Toxo* IgM для наблюдаемого населения.

**Таблица 1-А**  
**Распределение значений *Toxo* IgM (кат.№ 2325150), полученных при анализе 108 образцов**

DAI <i>Toxoplasma</i> IgM Assay ISR Range	Number of Specimens	Percent of Total
0.00-0.20	74	68.5%
0.21-0.40	19	17.6%

0.41-0.60	6	5.6%
0.61-0.80	3	2.0%
0.81-0.90	2	1.9%
0.91-1.10	3	2.8%
1.11-1.20	0	0.0%
1.21-1.40	0	0.0%
1.41-1.60	1 <sup>a</sup>	0.9%

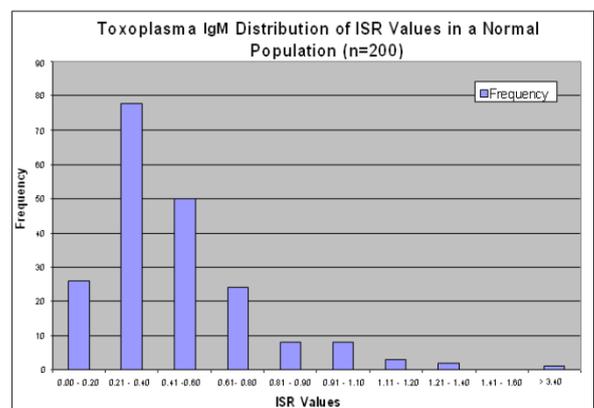
<sup>a</sup> Этот образец был положительным и все другие образцы были отрицательными при испытании другими коммерчески доступными ELISA.



В общей сложности 200 случайных проб сывороток от центров крови США, 100 из центров крови в Калифорнии и 100 из центров крови на восточном побережье, были испытаны для установления ожидаемых значений в популяции, не имеющей известных клинических случаев инфицирования *Toxoplasma*. В таблице 1-В приведено распределение значений ISR, наблюдавшихся для населения.

**Таблица 1-В**  
**Распределение значений *Toxo* IgM (кат.№ 1102-1Z), полученных при анализе 200 образцов**

DAI <i>Toxoplasma</i> IgM Assay ISR Range	Number of Specimens	Percent of Total
0.00-0.20	26	13%
0.21-0.40	73	39%
0.41-0.60	50	25%
0.61-0.80	24	12%
0.81-0.90	8	4%
0.91-1.10	8	4%
1.11-1.20	3	1.5%
1.21-1.40	2	1%
1.41-1.60	0	0%
> 3.41	1	0.5%



Для определения ожидаемых значений для лиц, подозреваемых в недавнем клиническом инфицировании инфекцией *Toxoplasma*, 69 образцов сыворотки были анализированы с использованием анализа DAI *Toxo* IgM (каталог # 1102-1Z). Результаты суммированы в таблице 2.

**Таблица 2**  
**Распределение DAI *Toxo* IgM (каталог # 1102-1Z) Значения ISR 69 образцов, взятых у предположительно недавно инфицированных *Toxoplasma***

DAI <i>Toxoplasma</i> IgM Assay ISR Range	Number of Specimens	Percent of Total
0.00-0.50	1 <sup>a</sup>	1.4%
0.51-0.90	7 <sup>b</sup>	10.1%
0.91-1.10	8 <sup>c</sup>	11.6%
1.11-1.50	21 <sup>d</sup>	30.4%
1.51-2.00	24 <sup>e</sup>	34.8%
2.01-2.50	6 <sup>f</sup>	8.7%
2.51-3.00	1 <sup>g</sup>	1.4%
3.01-3.50	1 <sup>h</sup>	1.4%
3.51-4.00	0	0.0%

<sup>a</sup> Образец отрицательный при тестировании другим имеющимся в

продаже ELISA.

<sup>b</sup> 6 образцов были отрицательными и 1 сомнительным при тестировании другим имеющимся в продаже ELISA.

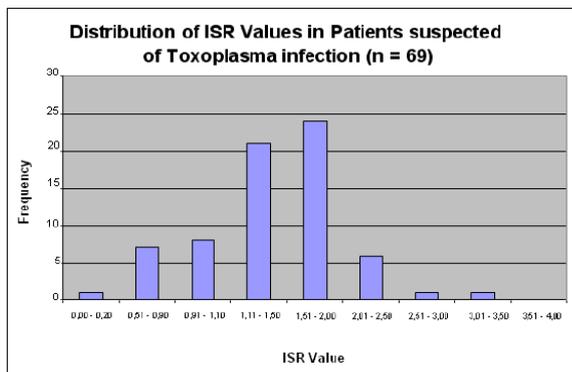
<sup>c</sup> 1 образец был положительным, 6 сомнительными и 1 отрицательным при тестировании другим имеющимся в продаже ELISA.

<sup>d</sup> 18 образцов были положительными и 3 двусмысленным при тестировании другим имеющимся в продаже ELISA.

<sup>e</sup> 22 образцов были положительными, 1 сомнительным и 1 отрицательным при тестировании другим имеющимся в продаже ELISA.

<sup>f</sup> 4 образца были положительными и 2 сомнительными при тестировании другим имеющимся в продаже ELISA.

<sup>g</sup> Оба образца были положительными при тестировании другим имеющимся в продаже ELISA.



Информация о клинической значимости значений ISR находится в разделе "Интерпретация результатов".

#### ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

1. 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.
2. Результаты иммунологических анализов, проведенных на образцах сывороток, взятых у пациентов с ослабленным иммунитетом, должны интерпретироваться с осторожностью.
3. 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.
4. Отсутствие определяемых антител IgM не исключает возможность недавней или текущей инфекции.
5. Специфический IgG может конкурировать с IgM за связывание, что может привести к ложным отрицательным результатам. С другой стороны, ревматоидный фактор в присутствии специфических IgG может привести к ложной положительной реакции. Раствор для разведения Plus уменьшает количество конкурирующих вирус-специфических IgG и минимизирует интерференцию ревматоидного фактора в образцах. Исследования показывают, что максимальное количество IgG, которое может быть удалено при помощи разбавителя, превышает ожидаемое наивысшее значение нормального диапазона для IgG > 1380 мг/дл. Самый высокий титр тестируемого РФ+ (1:2560; 1000 МЕд/мл) не влияет на производительность анализа.
6. Некоторые антиядерные антитела могут быть причиной ложных положительных реакций в некоторых тестах ELISA.
7. Настоятельно рекомендуется, чтобы образцы новорожденного и матери тестировались параллельно. Наличие IgM антител в сыворотке крови новорожденных можно считать свидетельством врожденной инфекции, только если не было плацентарной утечки. Кроме того, если ребенок имеет врожденные инфекции, уровни IgM антител (и IgG-антител) могут сохраняться или расти, в то время как, если источником антител является мать, уровень антител у новорожденного упадет параллельно с периодом полураспада иммуноглобулина.
8. Результаты этого теста должны интерпретироваться врачом с учетом других клинических данных и диагностических процедур.
9. Этот тест не предназначен для определения иммунного статуса. Он предназначен для определения реакции антител человека, чтобы указать на активную инфекцию к вирусу кори, а не как показатель иммунитета.

10. Рабочие характеристики не были получены с использованием образцов от пациентов с документированной инфекцией Toxoplasma, ни с использованием других образцов, отличных от сыворотки.

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Чувствительность и специфичность

DAI Toxo IgM ELISA (каталог # 1102-1Z) оценивали по сравнению с коммерчески доступными Toxo IgM ELISA. Исследуемая популяция из 177 образцов состояла из случайно собранных сывороток от здоровых амбулаторных доноров, а также положительных образцов из независимых клинических лабораторий на северо-востоке США. Противоречивые образцы прошли дальнейшее тестирование имеющимся в продаже IFA набором для обнаружения антител IgM к Токсоплазма. 18 образцов остались сомнительными или неопределенными среди 3 тест-систем и не были использованы в расчетах чувствительности и специфичности. Результаты представлены в таблице 3:

**Таблица 3**  
Относительная чувствительность и специфичность  
DAI ELISA

		(+)	(-)	Relative Sensitivity	Relative Specificity
ELISA					
or	(+)	45	0	100%	97.4%
Referee	(-)	3	111		
95% confidence intervals	-			93.5-100%*	94.4-100%

95% доверительные интервалы были вычислены, используя обычный метод.

\* Этот доверительный интервал был вычислен с использованием одного ложно отрицательного результата.

Обратите внимание, что «относительный» относится к сравнению результатов этого анализа с аналогичным.

Не было попытки соотнести результаты анализа с отсутствием или наличием болезни.

В связи с очевидно низкой распространенностью анти-IgM Токсоплазмы в Соединенных Штатах, образцы, используемые для установления производительности этого анализа, не могут быть показателями в данном анализе. При очень низкой распространенности аналитов существует повышенная вероятность, что положительный результат на самом деле является ложно положительным, уменьшая положительное прогностическое значение теста.

##### Точность

Исследование было проведено с целью документирования типичной точности анализа с набором DAI Токсоплазма IgM ELISA (каталог # 2325160). Среднее, SD и CV% были рассчитаны в пределах анализа и между анализами.

##### Точность в пределах анализа

В Таблице 5 представлены результаты анализа 6 образцов, которые пипетировались отдельно в группы по 10 в одном анализе.

**Таблица 5**  
Точность в пределах анализа

	n	Mean ISR	Std Dev	% CV
Serum 1	10	1.10	0.05	1.5%
Serum 2	10	1.98	0.12	6.0%
Serum 3	10	1.58	0.05	3.4%
Serum 4	10	1.56	0.09	6.0%
Serum 5	10	0.22	0.01	4.4%
Serum 6	10	0.19	0.01	3.2%

##### Точность между анализами

В Таблице 6 представлен итог точности между анализами. Данные получены путем анализа 6 образцов, которые пипетировались отдельно в группы по 10 в 3 разных анализах.

**Таблица 4**  
Точность между анализами

	n	Assay 1	Assay 2	Assay 3	Mean ISR	Std Dev	%CV
Serum 1	30	1.36	1.10	1.13	1.20	0.15	12.3%
Serum 2	30	1.99	1.98	1.97	1.98	0.18	9.1%
Serum 3	30	1.98	1.58	1.67	1.75	0.20	11.3%
Serum 4	30	1.78	1.56	1.83	1.62	0.13	8.0%
Serum 5	30	0.26	0.22	0.21	0.23	0.02	10.1%
Serum 6	30	0.24	0.19	0.20	0.21	0.02	11.5%

##### Перекрестная реактивность

###### Метод

Исследование было проведено с целью оценки возможного вмешательства антиядерных антител (АНА) и ревматоидного

фактора (РФ) с набором DAI Toxo IgM ELISA (каталог # 1102-1Z).  
Девятнадцать (19) образцов, отрицательных для Toxoplasma с  
коммерчески доступным ELISA, которые дали положительный  
результат с другими коммерчески доступными наборами для ANA  
(11) или RF (8), анализировали с DAI Toxo IgM ИФА.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

Отрицательные Toxo IgM ELISA результаты испытаний во всех  
образцах указывают на отсутствие интерференции с образцами,  
содержащими АНА или РФ.



#### **ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР**

ООО «ДИАМЕБ»  
ул.Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
е-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)