



Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
IgG АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ TOXOPLASMA SPP.
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«Toxoplasma IgG-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF IgG ANTIBODIES TO TOXOPLASMA SPP.
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

Toxoplasma IgG EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K101**

ТУ № 9398-101-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/07035 от 1 марта 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/ На 96 определений

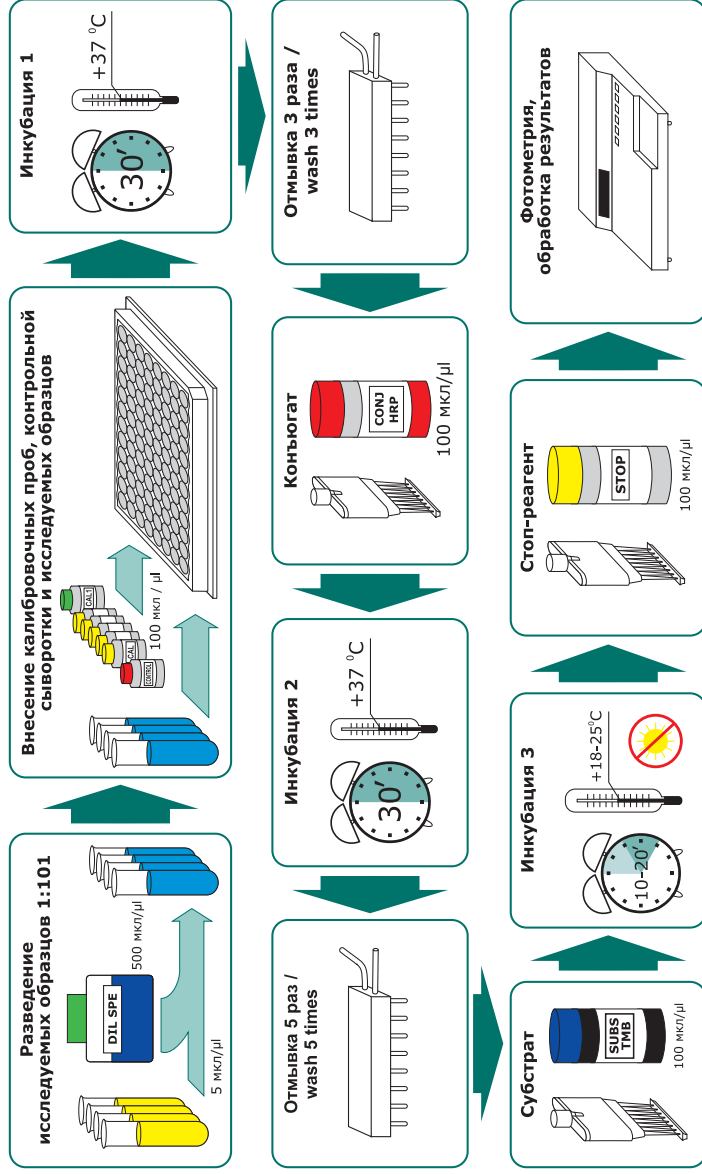


Для *ин витро* диагностики



XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com

Схема проведения анализа / Test procedure



K101, K102

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	2
4. СОСТАВ НАБОРА	3
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	4
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	4
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	5
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	6
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8
11. ЛИТЕРАТУРА	9

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	11
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	15
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	16
11. LITERATURE	16

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ *TOXOPLASMA SPP.* В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «*Toxoplasma* IgG-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Наборреагентов «*Toxoplasma* IgG-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации IgG антител к антигенам *Toxoplasma spp.* в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Токсоплазмоз является широко распространенным инфекционным заболеванием, вызываемым внутриклеточным паразитом *Toxoplasma gondii*, способным инфицировать все виды млекопитающих. Определение IgG-антител к *Toxoplasma gondii* используется с целью изучения иммунитета беременных женщин. IgG-антитела к *T.gondii* имеют протективную функцию и обеспечивают устойчивый иммунитет от повторной инфекции. Специфическое ведение неиммунизированных (отрицательных по IgG-антителам) беременных женщин уменьшает риск развития первичных инфекций.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgG антител к антигенам *Toxoplasma gondii* основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген – *Toxoplasma gondii*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата поликлональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации специфических IgG антител к антигенам *Toxoplasma gondii*.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Использование высокоочищенного препарата позволяет достичь высокой специфичности анализа.

Для определения количественных характеристик набора реагентов использован международный стандарт TOXM (NIBSC, London).

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания IgG антител к антигенам *Toxoplasma spp.* в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «*Toxoplasma* IgG-ИФА» не превышает 8.0%.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P101Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	C101Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества IgG антител к антигенам <i>Toxoplasma gondii</i> – 0; 15; 50; 100; 200 ME/мл , готовы к использованию (по 1.5 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q101Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgG антител к антигенам <i>Toxoplasma gondii</i> , готова к использованию (1.5 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T101Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость красного цвета
5	S011Z3	DIL SPE	ИФА-Буфер , готов к использованию (50 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
10	K101I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «Toxoplasma IgG-ИФА»	1	шт	-
11	K101Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «Toxoplasma IgG-ИФА»	1	шт	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 5–250 мкл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «*Toxoplasma* IgG-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- ИФА-Буфер, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора. Результаты считают действительными, если параметры калибровочного графика соответствуют диапазонам, приведенным в Паспорте контроля качества.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз , используя ИФА-Буфер (S011Z3). Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	При количественном учете результатов: внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	При качественном учете результатов: внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочных проб CAL1, CAL2 и CAL5. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °C.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °C.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержащего лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержащего лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
13	При количественном учете результатов: постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) - концентрация IgG антител к антигенам Тохорlasma spp. в калибровочных пробах (МЕ/мл), ось ординат (у) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание IgG антител к антигенам Тохорlasma spp. в исследуемых образцах.
15	При качественном учете результатов: 1. Рассчитайте среднее ОП калибровочной пробы CAL2 2. Умножьте это среднее на коэффициент (Q), значение которого указано в Паспорте серии - получите граничное значение оптической плотности (ОПГ); 3. Для каждого образца вычислите коэффициент К, получаемый делением ОП образца на ОПГ. При $K > 1.1$ образец положительный, при $K < 0.9$ - отрицательный. При значении К, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 - результат в пограничной зоне (+/-).

Таблица М

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма) крови	исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов	5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера	100	1

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

10.2. Некоторые лаборатории на основании результатов собственных популяционных исследований вводят «второй cut-off», расположенный между анамнестическим («нормальным») и «высоким» уровнем IgG-антител, характерным для реактивации или позднего периода первичной инфекции. Значения «второго cut-off» для возрастных групп 8 месяцев – 3 года и старше 3 лет приведены в таблице ожидаемых значений.

Если значение лежит в интервале от 15.1 МЕ/мл (К от 1.1) до «второго cut-off», это может свидетельствовать либо о начальном периоде первичной инфекции, либо об инфекции, перенесенной ранее. Чтобы прояснить ситуацию, необходимо исследовать повторные образцы крови того же пациента, взятые через несколько недель. Нарастание титра в повторном образце свидетельствует о наличии инфекции. Если же титр не нарастает, это свидетельствует об отсутствии активной инфекции и об анамнестическом характере антител.

Если концентрация в исследуемом образце, превышает значение верхней калибровочной пробы (200 МЕ/мл), его следует дополнительно развести Буфером для разведения образцов в 10 раз и более. При расчете концентрации необходимо умножить полученный результат на Фактор разведения.

Исследуемая группа	Единицы, МЕ/мл		Единицы доп., К	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Серонегативные	-	15	<0.1	0.9
Серопозитивные старше 3 лет	15.1	125	1.1	8.3
новорожденные*	-	19.5	<0.1	1.3
до 8 месяцев*	-	42.0	<0.1	2.8
8 месяцев - 3 года	-	58.5	<0.1	3.9

*материнские антитела

Результаты, лежащие в промежутке от 15 МЕ/мл до 40 МЕ/мл, указывают на здоровое носительство или начальную стадию инфекции. Требуется повторное обследование через 2 недели.

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Дубининская Г. М., Изюмская О. М., Козюк П. М. и др. // Токсоплазмоз. Клиника, диагностика и лечение // Вести медицины и фармации. – 2003 – №1 – с.23-25
2. Desmonts G., Daffos F., Forestier F. et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis // Lacent. – 1985 – Vol. 8427, №1 – p.500-504
3. Genum P. A., Stray-Pedersen B., Gundersen A. Impruved Diagnosis of Primary Toxoplasma Gondii Infection in Early Pregnancy by Determination Antitoxoplasma Immunoglobulin G Avidity // Journal of Clinical Microbiology. – 1997 – №8 – 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, №2 – p.69-76
5. Tenter A. M., Heckeroth A. R., Weiss L. M. Toxoplasma gondii: from animals to humans // International Journal of Parasitology. – 2000 – №30 – p.1217-1258

По вопросам, касающимся качества Набора **«Toxoplasma IgG-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,

тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru

интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE
QUANTITATIVE DETERMINATION OF IGG ANTIBODIES TO
TOXOPLASMA SPP.
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of IgG antibodies to *Toxoplasma spp.* in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of IgG antibodies to *Toxoplasma spp.* in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Toxoplasmosis is a widespread infection caused by the intracellular protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. In most of cases, toxoplasmosis is a mild or asymptomatic disease; however, in immunocompromised patients this disease may be very severe and even life-threatening. Another risk group is pregnant women in whom primary toxoplasmosis can be transfected to the fetus, causing abortion, and severe malformations.

The non-immune status is revealed by the absence of specific IgG-antibodies in blood serum or plasma. Specific management of non-immune (specific IgG-negative) pregnant women reduces the risk of primary infection. Therefore, the determination of specific IgG-antibodies in young women plays an important role in prophylaxis of damage caused by *Toxoplasma gondii*.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on indirect enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by the antigen. Antibodies from the specimen bind coated antigen on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards species specific Ig, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

4.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

4.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

4.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

4.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

4.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

4.10. Do not mix reagents from different lots.

4.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

4.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

4.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Toxoplasma IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-5	Calibrator set, 1.5 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 15; 50; 100; 200 IU/ml	5	pcs	blue (C1- colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (1.5 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 50 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10 K101I	Instruction Toxoplasma IgG EIA	1	pcs		N/A
11 K101Q	QC data sheet Toxoplasma IgG EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 5–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at 2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators, control and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute all samples using buffer DIL SPE (EIA buffer) 101 fold. (5 µl of sample + 500 µl of diluent) . Do not dilute control sample and calibrators.
3	Pipet 100 µl of calibrators , control sample CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 30 minutes at +37 °C.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times
6	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C.
8	Wash the strips 5 times.
9	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
10	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
11	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
12	Measure OD (optical density) at 450 nm.
13	Set photometer blank on air.
14	Apply point-by-point method for data reduction.

7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	Sample into the well, μ l	Calculation factor
blood serum or plasma	grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing	5 μ l of sample + 500 μ l of diluent	100	1

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

Some laboratories, based on their population studies, set up a second cutoff, which stands between anamnestic ('normal') IgG antibody level and 'high' IgG antibody level characteristic of reactivation or late period of primary infection. Recommended values for this second cut-off for two age groups (8 months – 3 year, > 3 years) are presented in the table below.

10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for *Toxoplasma* IgG. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below).

Sex, age	Units, IU/ml	
	Lower limit	Upper limit
Seronegative	-	15
Seropositive > 3 years	15.1	125
newborn*	-	19.5
under 8 months*	-	42.0
8 months - 3 years	-	58.5

*antibodies of maternal origin

11. LITERATURE

1. Dubininskaya G.M., Izjumskaya O.M., Kozik P.M. et al. Toxoplasmosis. Clinical picture, diagnostics and treatment. In: Vesti Meditsiny i Farmatsii. – 2003 – #1 – p.23-25.
2. Desmonts G., Daffos F., Forestier F. et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis // Lacent. – 1985 – Vol. 8427, №1 – 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 – №8 – 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, №2 – p.69-76
5. Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M. Toxoplasma gondii: from animals to humans // International Journal of Parasitology. – 2000 – №30 – p.1217-1258

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

