«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«07» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для иммуноферментного количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса G
к *Toxoplasma gondii*
(ВектоТоксо-IgG)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса G к *Toxoplasma gondii* «ВектоТоксо-IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к *Toxoplasma gondii* в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольный и калибровочные образцы. Возможно дробное использование набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «непрямом» варианте твердофазного иммуноферментного анализа. На первой стадии анализа содержащиеся в исследуемых образцах специфические антитела (в том числе IgG) связываются с иммобилизованным на поверхности лунок планшета антигеном *Toxoplasma gondii*. На второй стадии конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена взаимодействует с комплексами «антиген–IgG». При инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген–IgG–конъюгат». Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в анализируемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются измерением оптической плотности в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) *Описание*	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованным антигеном *Toxoplasma gondii*	1 шт.
Калибровочные образцы* *Содержат известные количества IgG к Toxoplasma gondii – 0; 10; 100; 400; 1000 МЕ/мл* *Содержат ProClin 300 (0,03%)*	5 фл. по 1,5 мл
Контрольный образец *Содержит IgG к Toxoplasma gondii в пределах, указанных в паспорте и на этикетке флакона, МЕ/мл* *Содержит ProClin 300 (0,03%)*	1 фл., 1,5 мл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Конъюгат *Конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена.* *Содержит натрия мертиолят (0,0007%);* *ProClin 150 (0,0034%); ProClin 300 (0,027%);* *фенол (0,004%)*	1 фл., 13,0 мл
Раствор для разведения сывороток (РРС) *Содержит ProClin 300 (0,0005%)*	1 фл., 12,0 мл
Раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) *Содержит ProClin 300 (0,02%)*	1 фл., 10,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) *Содержит ProClin 300 (0,25%)*	1 фл., 28,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) *Содержит 3,3',5,5' – тетраметилбензидин (0,025%)*	1 фл., 13,0 мл
Стоп-реагент *Содержит кислоту серную (4,9%)*	1 фл., 12,0 мл
Планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов	1 шт.
Пленки для заклеивания планшета	2 шт.
Наконечники для дозаторов на 2–200 мкл	16 шт.
Ванночки для реагентов	2 шт.
Трафарет для построения калибровочного графика	1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.** Воспроизводимость – коэффициент вариации не превышает 8%.

3.2.** Линейность в диапазоне концентраций IgG к *Toxoplasma gondii* 10–400 МЕ/мл (при инкубации в термостате) и 10–1000 МЕ/мл (при инкубации в термостатируемом шейкере) – в пределах 90–110%.

3.3.** Тест на «открытие» – в пределах 90–110%.

3.4.** Аналитическая чувствительность – минимально определяемая концентрация IgG к *Toxoplasma gondii* не превышает 1,0 МЕ/мл.

3.5. Диагностическая чувствительность качественного определения IgG к *Toxoplasma gondii*: клинические испытания, проведенные на 175 положительных образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от 100 пациентов, показали 100% чувствительность (интервал 97,1–100%, с доверительной вероятностью 90%);

3.6. Диагностическая специфичность качественного определения IgG к *Toxoplasma gondii*: клинические испытания, проведенные на 225 отрицательных образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от 150 пациентов, показали 100% специфичность (интервал 98,0–100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 300, ProClin 150, фенол, кислоту серную, натрия мертиолят, тетраметилбензидин в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми, контрольным и калибровочными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются)
в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при одной длине волны – 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37±1)°С или термостатируемый шейкер орбитального типа, поддерживающий температуру (37±1)°С, с интенсивностью перемешивания 700 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- дозаторы одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 10 до 5000 мкл;
- дозаторы многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 10 до 300 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки крови человека или образцы плазмы крови, полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия, гепарина, ЭДТА.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови хранить при температуре (2–8)°С не более 5 суток или при температуре минус 18°С и ниже, если требуется более длительное хранение.

После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.4. Образцы сыворотки или плазмы крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. *Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26)°С не менее 30 мин.

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2–8)°С, использовать в течение всего срока годности. Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-регента при температуре (2–30)°С.

– Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

– При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, раствор ТМБ, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

– Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

– Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

– При использовании автоматического устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% этиловом спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.

– Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– В случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом, а затем дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (ванночки) дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

– Запрещается повторное использование планшета разборного для предварительного разведения исследуемых образцов.

7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей необходимо прогреть его при температуре (30–40)°С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и довести до соответствующего объема дистиллированной водой, тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2–8)°С не более 1 месяца или при (18–26)°С не более 7 суток.

7.4. Конъюгат.

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

7.5. Раствор ТМБ.

Раствор ТМБ готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в ванночку для реагента.

7.6. Подготовка исследуемых образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Исследуемые образцы развести в 10 раз РПРС. Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельных образцов сыворотки (плазмы), тщательно перемешать.

При разведении сыворотки красный цвет РПРС должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

10-ти кратно разведенные образцы можно хранить не более 3 ч при температуре (18–26)°С.

7.7. Калибровочные и контрольный образцы, стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Внесение контрольных и исследуемых образцов.

Для постановки **качественного** варианта анализа в лунки А-1, В-1, С-1 внести по 100 мкл калибровочных образцов 0; 10; 400 МЕ/мл, соответственно.

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.6.). Таким образом, исследуемый образец в лунке разбавляется в 100 раз.

Для постановки **количественного** варианта анализа:

При проведении инкубации в **термостате** в лунки А-1, В-1, С-1, D-1 внести по 100 мкл калибровочных образцов 0; 10; 100; 400 МЕ/мл, соответственно; в лунку Е-1 – 100 мкл контрольного образца.

При проведении инкубации в **термостатируемом шейкере** в лунки А-1, В-1, С-1, D-1, Е-1 внести по 100 мкл калибровочных образцов 0; 10; 100; 400; 1000 МЕ/мл, соответственно; в лунку F-1 – 100 мкл контрольного образца.

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.6.).

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин.

8.2. Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 30 мин в термостате при температуре (37±1)°С либо 15 мин в термостатируемом шейкере при температуре (37±1)°С с интенсивностью перемешивания 700 об/мин.

8.3. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.4. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (п. 7.4.).

Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 30 мин в термостате при температуре (37±1)°С либо 15 мин в термостатируемом шейкере при температуре (37±1)°С с интенсивностью перемешивания 700 об/мин – при проведении первой инкубации в термостатируемом шейкере.

Остатки конъюгата из ванночки или флакона утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)***.

8.5. По окончании второй инкубации промыть лунки (как указано в п. 8.3) 5 раз.

8.6. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ (п. 7.5.).

Инкубировать 25 мин в защищенном от прямого солнечного света месте при температуре (18–26)°С либо 10 мин в термостатируемом шейкере при температуре (37±1)°С с интенсивностью перемешивания 700 об/мин – при проведении предыдущих инкубаций в термостатируемом шейкере.

Остатки ТМБ из ванночки или флакона утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)***.

8.7. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

8.8. Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение при одной длине волны – 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

$ОП_{10} \geq 0{,}08$,

$ОП_0/ОП_{10} \leq 0{,}7$;

$ОП_{400} \geq 0{,}8$,

где $ОП_0$, $ОП_{10}$, $ОП_{400}$ – значения ОП в лунках с калиб-ровочными образцами 0, 10 и 400 МЕ/мл.

9.2. Качественное определение IgG к *Toxo-plasma gondii*

Результат анализа считать **отрицательным**, если $ОП_{обр.} < ОП_{10}$, где $ОП_{обр.}$ – значение ОП в лунке с исследуемым образцом.

Результат анализа считать **положительным**, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{10}$.

9.3. Количественное определение IgG к *Toxoplasma gondii*

9.3.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости значения оптической плотности от концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в калибровочных образцах.

9.3.2. Определить концентрацию IgG к *Toxoplasma gondii* в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Значение концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в контрольном образце должно попадать в пределы, указанные на этикетке флакона.

9.3.3. Если $ОП_{обр.} > ОП_{400}$ (при инкубации в термостате) или $ОП_{обр.} > ОП_{1000}$ (при инкубации в термостатируемом шейкере), результат следует выражать как > 400 МЕ/мл или > 1000 МЕ/мл, соответственно. Для определения концентрации в таких образцах необходимо повторить анализ с разведением образца в 1000 раз (цельный образец следует сначала развести в 10 раз промывочным раствором (п. 7.3.), а затем (в соответствии с п.7.6.) РПРС). Полученный результат умножить на коэффициент 10.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 26°С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8)°С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «ВектоТоксо-IgG»,
следует обращаться в АО «Вектор-Бест»
по адресу:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

630559, Новосибирская область,
р.п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, тел. (383) 227-75-40.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор адаптирован для постановки ИФА на аналитических анализаторах открытого типа («LAZURITE», производитель «DYNEX TECHNOLOGIES»; «TECAN Freedom EVOlyzer», производитель «TECAN»; «EVOLIS», производитель «BIO-RAD» и др.).

При дробном использования набора не помещать флаконы, входящие в состав набора, в камеру анализатора, а для каждой постановки необходимое количество компонентов отбирать в отдельную чистую емкость. Исключение составляет стоп-реагент – взаимозаменяемый компонент для всех наборов АО «Вектор-Бест».

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации Toxo-IgG в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Диагностическая значимость результатов анализа

Токсоплазмоз – широко распространенное зоонозное протозойное заболевание, характеризующееся длительным хроническим течением, полиморфностью клинической картины (от бессимптомного носительства до летальных форм болезни) и возможностью внутриутробного инфицирования плода.

Возбудитель – кокцидия *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) – облигатный внутриклеточный паразит, относится к типу простейших.

Инфицированность населения колеблется от 10 до 90%. Ежегодно острый токсоплазмоз переносят 1–3% населения. Доминирующее значение в зараженности человека имеют прямой или опосредованный контакт с животными семейства кошачьих, а также употребление в пищу продуктов, контаминированных токсоплазмами, и не подвергающихся адекватной термической обработке. Кроме того, возможна трансплацентарная передача возбудителя и заражение при трансплантации органов.

У иммунокомпетентных лиц заболевание, как правило, протекает без субъективных проявлений и не оказывает значимого влияния на качество жизни. При наличии иммунного дисбаланса (иммунодефицита) токсоплазмоз может протекать с признаками интоксикации, лимфаденита, гепатолиенального синдрома, нарушений функции ЦНС, поражением других органов и систем. Весьма актуальна проблема генерализации латентного токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных с развитием тяжелого некротического энцефалита с большой вероятностью летального исхода.

Токсоплазмоз входит в группу TORCH-инфекций, считающихся потенциально опасными для внутриутробного развития плода. Врожденный токсоплазмоз является результатом трансплацентарной передачи возбудителя от матери к плоду при первичном заражении женщины после наступления зачатия, а также при вторичной паразитемии, развивающейся у ранее инвазированных токсоплазмами иммунокомпрометированных беременных (как правило, больных ВИЧ-инфекцией на стадии СПИД). Наиболее тяжелое поражение плода обусловлено инфицированием в первые три месяца беременности – во время органогенеза. В период новорожденности заболевание может протекать в манифестной и субклинической форме, формируя в дальнейшем латентное или хроническое течение, в последнем случае – с более высокой частотой рецидивов и обострений, особенно – в пубертатном возрасте. Трансплацентарное инфицирование плода может наступить только при заражении матери во время данной беременности. Во время беременности инфицируется около 1% женщин, которые в 30–40% случаев передают инфекцию плоду. Для принятия решений о необходимости проведения превентивной терапии, дополнительных диагностических мероприятий важно наиболее точно определить давность инфицирования *T. gondii*: произошло оно задолго до, непосредственно перед либо во время беременности. Дифференцировать острую инфекцию от паст-инфекции помогает комплексный подход к диагностике – сопоставление данных всего спектра серологических маркеров токсоплазмоза:

а) результатов выявления специфических IgM, IgA;

б) определения индекса авидности IgG и концентрации IgG в динамике.

Анализ серологического профиля пациента позволяет определить вероятный срок инфицирова-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ния *T.gondii* (таблица 2).

Серонегативным беременным женщинам необходимо проводить контрольное серологическое исследование в течении всего срока беременности.

Специфические IgG начинают определяться через 1–2 недели после заражения, достигая максимальных значений концентрации через 2–3 месяца. В дальнейшем их концентрация снижается и может изменяться волнообразно. IgG к *T.gondii* сохраняются пожизненно.

2. Список использованной литературы:

1) Инфекционные болезни: национальное руководство / Под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 1056 с. – (Серия «Национальные руководства»).
2) Долгих Т.И. Токсоплазмоз: современная стратегия лабораторной диагностики // Инфекция и иммунитет. 2011, Т. 1, №1, с. 43–50.
3) Покровский В.И., Пак С.Г., Брико Н.И., Данилкин Б.К. Инфекционные болезни и эпидемиология. Учебник. Третье издание. «ГЭОТАР-Медиа», 2013.
4) Казанцев А.П. Токсоплазмоз. М., Медицина, 1985. – 167 с.
5) Казанцев А.П. Дифференциальная диагностика инфекционных болезней. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 1999. – 482 с.
6) Robert-Gangneux F. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis / Robert-Gangneux F., Dardy M.-L. // Clin. Microbiol. Rev. – 2012. – Vol. 25, №2. – P. 264–296.
7) Васильев В.В. Токсоплазмоз: современные научно-практические подходы. Http://www.infectology.ru/mnenie/index.asp, 2004.

3. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ВектоТоксо-IgG»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

3.1. Термостат

Внести: **Качественный анализ**
по 100 мкл калибровочных образцов 0; 10; 400 МЕ/мл и контрольного образца.
Количественный анализ
по 100 мкл калибровочных образцов 0; 10; 100; 400 МЕ/мл
и контрольного образца.

Внести: по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.

Инкубировать: 30 мин, 37°С.

Промыть: промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 30 мин, 37°С.

Промыть: промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора ТМБ.

Инкубировать: 25 мин, 18–26°С, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

3.2. Термошейкер

Внести: **Качественный анализ**
по 100 мкл калибровочных образцов 0; 10; 400 МЕ/мл и контрольного образца.
Количественный анализ
по 100 мкл калибровочных образцов 0; 10; 100; 400; 1000 МЕ/мл
и контрольного образца.

Внести: по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.

Инкубировать: 15 мин, 37°С, 700 об/мин.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 15 мин, 37°С, 700 об/мин.

Промыть: промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора ТМБ.

Инкубировать: 10 мин, 37°С, 700 об/мин.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

4. Графические символы

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 1 расхода компонентов

Кол-во используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл
	ФСБ-Т×25, мл	Дистил.вода, мл		
1	2,0	до 50	1,0	1,0
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

* Калибровочные образцы набора реагентов «ВектоТоксо-IgG» аттестованы относительно стандарта «WHO International Standard 4th IS for Antibodies, Human, to Toxoplasma gondii» (NIBSC code: 13/132).

** по ГОСТ Р 51352-2013

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2

Определение предполагаемого срока инфицирования в диагностике токсоплазмоза

№ /п	Результаты ИФА					Динамика концентрации Тохо–IgG	Динамика концентрации Тохо–АТ суммарных	Предполагаемая давность инфицирования	Риск инфицирования плода	Диспансерное наблюдение	Тактика врача–гинеколога
	Тохо–АТ суммарные	Тохо–IgG	Тохо–IgG–авидность	Тохо–IgM	Тохо–IgA						
1	–	–	–	–	–	–	–	–	Нет	Проводится для профилактики врожденного	Серологическое обследование (ИФА) на протяжении всей беременности. Санитарно–профилактическое просвещение.
2	+	–	–	+	–	–	–	Предыдущие 7 дней	Есть	Проводится	Исключить наличие РФ–М*. Требуется повторное обследование через 7–10 дней для определения IgG, IgA. ***
3	+	–	–	+	+	–	Увеличение концентрации Тохо–АТ суммарных в	Предыдущие 14 дней	Есть	Проводится	Требуется повторное обследование через 7–10 дней для определения IgG. ***
4	+	+	ИА ** <40%	+	+	Увеличение концентрации Тохо-IgG в парных сыворотках в 1,5–2 раза	Увеличение концентрации Тохо-АТ суммарных в парных сыворотках в 2–4 раза	Предыдущие 2–8 недель	Есть	Проводится	Исключить наличие РФ-М*. Экстренная превентивная этиотропная терапия. В ранние сроки – прерывание беременности по мед.показаниям (с согласия женщины).
5	+	+	ИА ** <40%	+/–	+	Без динамики	Без динамики	3–6 месяцев	Есть (в зависимости от срока беременности на момент анализа)	Проводится	Исключить наличие РФ-М*. Показана этиотропная терапия, консультация у врача-инфекциониста.
6	+	+	ИА 40%–60%	+/–	+/–	Без динамики	Без динамики	Более 6 месяцев	Есть (в зависимости от срока беременности на момент анализа)	Проводится	Показана консультация у врача-инфекциониста.
7	+	+	ИА >6	–	+/–	Без динамики	Без динамики	Более 8 месяцев	Нет	Не проводится	Дальнейшего обследования на токсоплазмоз не требу-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

* РФ-М – ревматоидный фактор класса М. Одновременное присутствие в крови РФ–М и специфических IgG может приводить к получению ложноположительных результатов при определении специфических IgM к антигенам методом непрямого ИФА.

** ИА – индекс авидности.

*** Экстренная превентивная этиотропная терапия проводится при доказанной ранней стадии острого токсоплазмоза.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru