

НАБОР ИФА

ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К ЦИСТИЦЕРКОЗУ (TAENIA SOLIUM)

8105-3, Cysticercosis (T. Solium)

Каталог. № : 8105-3
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 12-18-2012



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

Анализ	Cysticercosis ELISA
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	96 %
Чувствительность	88 %
Общее время	~ 30 мин.
Срок годности	12 мес.

* Результаты лабораторного исследования не могут быть единственной основой медицинского заключения. Необходимо учитывать историю болезни пациента и последующие анализы.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Для качественного определения IgG антител в сыворотке к *Taenia solium* с использованием методики твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Микролуночки для анализа покрыты жидким антигеном цисты *T. solium*. В течение первой инкубации с разбавленными сыворотками пациентов, любые антитела, взаимодействующие с антигеном, связываются с покрытыми лунками. После промывки для удаления остатка образца добавляется ферментный конъюгат. Если антитела закрепятся на лунках, затем ферментный конъюгат свяжется с этими антителами. После других серий промывок добавляется хромоген (тетраметилбензидин/ТМВ). При наличии ферментного конъюгата, пероксидаза катализирует реакцию, которая потребляет пероксид и превращает хромоген из прозрачного в синий. Добавление стоп раствора останавливает реакцию и превращает синий цвет в ярко-желтый. После этого реакцию можно считать визуально или с помощью иммуноферментного считывателя (ELISA).

РЕАГЕНТЫ		Символ
Позиция	Описание	
Полоски для анализа	Микролуночки, содержащие антигены <i>T. solium</i> - 96 лунок в рамке для полосок.	MT PLATE
Ферментный конъюгат	1 бутылка с 11 мл белка А, конъюгированного с пероксидазой.	CONJ
Положительный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленной положительной сыворотки кролика.	CONTROL +
Отрицательный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленной отрицательной сыворотки человека.	CONTROL -
Хромоген	1 бутылка с 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМВ).	SUBS TMB
Промывочный концентрат (20x)	1 бутылка с 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества.	WASH BUF
Молочный буфер для разбавления	1 или 2 бутылки с 30 мл раствора буферизованного раствора белка.	SPECM DIL
Стоп раствор	1 бутылка с 11 мл 0,73 М фосфорной кислоты.	SOLN

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не используйте растворы, если они выпадают в осадок или становятся мутными. Промывочный концентрат может

кристаллизироваться во время хранения при 2-8 °С. Кристаллизация исчезает после разбавления до рабочего состояния.

Не используйте сыворотку, которая, возможно, использовалась для поддержки роста микроорганизмов, или мутную сыворотку исходя из насыщенного содержания липидов. Образцы с высоким содержанием липидов должны быть перед использованием очищены.

Обращайтесь со всеми сыворотками как будто с инфекционными. Отрицательный контроль был проверен необходимыми методами и оказался отрицательным к поверхностному антигену гепатита В и к ВИЧ антителам. Так как никакое испытание не может предоставить полной гарантии, что возбудителей инфекций нет, это изделие должно использоваться в соответствующих безопасных условиях, которые бы использовались при любых потенциальных возбудителях инфекций.

Не добавлять в образцы или в любые реагенты азиды.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, полоски и компоненты в бутылках: Хранить при 2-8 °С. Гибкая бутылка с разбавленным промывочным буфером может храниться при комнатной температуре.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Промывочный буфер – снимите колпачок и добавьте содержимое бутылки к 475 мл дистиллированной воды. Перенесите разбавленный промывочный буфер в гибкую бутылку.

Замечание: промывки состоят из заполнения до края каждой лунки, встряхивания содержимого и обратного заполнения.

Избегать образования пузырьков в лунках в течение этапов промывки.

СБОР И ПОДГОТОВКА СЫВОРОТКИ

Коагулируйте кровь и удалите сыворотку. Заморозьте образец до -20 °С или ниже если он не используется сразу.

Не инактивируйте сыворотку теплом и избегайте повторного замораживания и размораживания образцов.

Анализируемые образцы: Проведите разбавление сывороток пациентов 1:64 с помощью буфера для разбавления (напр., 5 мкл сывороток и 315 мкл буфера для разбавления).

ПРОЦЕДУРА

Поставляемые материалы

Микролуночный серологический ELISA набор для определения цистицеркоза.

Требуемые, но не поставляемые материалы

Пипетки.

Гибкая бутылка для промывки полосок (рекомендуется узкий наконечник).

Подготовленная для реагентов вода (дистиллированная) и мерная колба.

Пробирки для разбавления образца.

Промокательная бумага

Рекомендуемые материалы

Планшеточный считыватель ELISA для считывания планшетов с фильтром 450/620-650 нм (выборочно, результаты могут считываться визуально).

Проведение теста

1 Отломить требуемое количество лунок (две для контролей и определенного количества образцов) и положить в рамку для полосок.

2 Добавить по 100 мкл (или 2 капли) отрицательного контроля в лунку #1, 100 мкл положительного контроля в лунку #2 и 100 мкл разбавленных (1:64) образцов для анализа в остальные лунки.

Замечание: Отрицательный и положительный контроли поставляются разбавленными. Не разбавлять.

3 Инкубировать при комнатной температуре (15 - 25°C) в течение 10 минут.

4 Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза разбавленным промывочным буфером .

5 Добавить в каждую лунку по 2 капли ферментного конъюгата.

6 Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.

7 Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером. Ударить лунками по бумажным полотенцам, чтобы удалить остаток влаги.

8 Добавить в каждую лунку по 2 капли хромогена.

9 Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.

10 Добавить по 2 капли стоп раствора и перемешать, постукивая по рамке для полосок.

СЧИТЫВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Визуально: Взглянуть на каждую лунку против белого фона (напр.. бумажного полотенца) и зафиксировать как чистая реакция или +, ++ или +++.

Считыватель ELISA: В рабочем состоянии установить считыватель на нуль. Настроить на бихроматические считывания на 450/650-620 нм.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Результаты анализа сывороток должны использоваться как вспомогательное средство в диагностике и не должны интерпретироваться как сам диагноз. В этом анализе произойдут значительные перекрестные реакции с инфекциями эхинококка. Если инфекцию эхинококка невозможно исключить в дифференциальной диагностике, положительный образец должен быть подтвержден другим способом (то есть иммуноблотом, предлагаемым CDC) или другим несерологическим способом.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование контролей позволяет облегчить проверку стабильности набора. Набор не должен использоваться, если любой из контролей выходит за диапазон.

Ожидаемые значения контролей:

Отрицательный – 0,0 до 0,3 единицы ОП.

Положительный – 0,5 единиц ОП и выше.

Обнаружение и решение проблем

Отрицательный контроль значительно развивает цвет.

Проблема: Несоответствующие промывки.

Исправление: промывки должны быть тщательнее. Удалите остаток жидкости из лунок постукивая ими на промокательном полотенце. Не позволяйте анализируемым лункам высыхать.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - ELISA считыватель

Настройте на нуль в рабочем режиме ELISA считыватель. Считайте все лунки при 450/650-620 нм.

Положительный – абсорбция считывания более чем 0.3 единиц ОП.

Отрицательный - абсорбция считывания менее чем 0.3 единиц ОП.

Положительное считывание ОП указывает, что пациент может быть инфицирован *T. Solium* близким к нему организмом (напр., эхинококком).

Отрицательное считывание ОП указывает, что пациент не имеет никакого обнаруживаемого уровня антител. Это может исходить из отсутствия инфекции или неполной иммунной реакции пациента.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - визуальная

Сравните результаты с контролями. Образец должен интерпретироваться как положительный если насыщенность цвета значительна и очевидна.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Количество людей, демонстрирующих положительные результаты, может значительно меняться между совокупностями и географическими областями. Если возможно, каждая лаборатория должна установить ожидаемый диапазон для своей совокупности пациентов.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

	Референтный метод		
		+	-
DAI	+	72	2
	-	10	46

Чувствительность:

С помощью ELISA набора компании ДАИ были проверены 30 иммуноблот положительных образцов к инфекции цистицеркоза; 26/30 были положительны в ДАИ ELISA, с чувствительностью 87 % в сравнении с иммуноблотом.

С помощью другого ELISA набора были проверены 52 положительных образца к инфекции цистицеркоза; 46/52 были положительны в ДАИ ELISA, с чувствительностью 88 % в сравнении с иммуноблотом.

Специфичность:

С помощью ELISA набора компании ДАИ были проверены 48 здоровых образцов; 46/48 были отрицательны в ДАИ ELISA, со специфичностью 96 %.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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