

## 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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)