

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭХИНОКОККА

**8202-29, Echinococcus**

Каталог. № : 8202-29  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 07-24-2013



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

Анализ	Echinococcus ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	ИФА типа «сэндвич»; покрытый антителами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль
Образец	100 мкл сыворотки
Специфичность	91,7 %
Чувствительность	97,9 %
Общее время	~ 100 мин.
Срок годности	12 мес.

*\*Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание*

## НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для качественного скрининга сыворотки на IgG-антитела к эхинококку с применением методики ИФА.

## ПРИНЦИП МЕТОДА

Микролуночки покрыты неочищенным антигеном цисты *Echinococcus*. Во время первой инкубации с разбавленной сывороткой пациента, любые антитела, которые реагируют с антигеном, связываются с покрытыми лунками. После промывания для удаления оставшегося образца, добавляется ферментный конъюгат. Если антитела связаны с лунками, ферментный конъюгат потом связывается с этими антителами. После следующей серии промывания добавляется ТМБ. Если присутствует ферментный конъюгат, пероксидаза катализирует реакцию, что использует перекись и превращает цвет хромогена на голубой. Добавление стоп раствора заканчивает реакцию и превращает цвет с голубого на ярко желтый. Реакция потом может считываться визуально или с помощью ридера ИФА.

## РЕАГЕНТЫ

- **Тестовые стрипы:** микролуночки, содержащие антиген *Echinococcus* – 96 или тестовых лунок в держателе стрипов.
- **Ферментный конъюгат:** 1 бут., содержащая 11 мл белка А, конъюгированного пероксидазой.
- **Положительный контроль:** 1 фл., содержащий 1 мл разбавленной положительной сыворотки кролика.
- **Отрицательный контроль:** 1 фл., содержащий 1 мл разбавленной отрицательной человеческой сыворотки.
- **Хромоген:** 1 бут., содержащая 11 мл хромогена ТМБ.
- **Концентрат промывочного раствора (20х):** 1 бут., содержащая 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества.
- **Буфер для разбавления:** 2 бут., содержащие 30 мл раствора буферизованного белка.
- **Стоп раствор:** 1 бут., содержащая 11 мл 0,73 М фосфорной кислоты.

## ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не используйте раствор, если есть осад или помутнение. Промывочный концентрат может показывать кристаллизацию при хранении при 2-8°C. Кристаллизация растворяется после разбавления до рабочего состояния.

Не используйте сыворотку, которая вероятно способствовала микробиологическому росту, или которая мутная через высокое содержание липидов. Образцы при высоком содержании липидов, необходимо очистить перед использованием.

Работайте со всеми образцами сыворотки как с потенциально инфекционными. Отрицательный контроль подвергался проверке соответствующими методиками и дал отрицательный результат к поверхностному антигену гепатита В и к ВИЧ-антителам. Данное изделие должно использоваться при соответствующих мерах предосторожности, применяемых для любого потенциального носителя инфекции.

Не добавляйте азиды к образцам или другим реагентам.

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, стрипы и компоненты:

Хранить при 2-8°C.

Гибкая бутылка, содержащая разбавленный промывочный буфер может храниться при комнатной температуре.

## ПОДГОТОВКА

**Промывочный буфер:** Удалите крышку и добавьте содержимое бутылки к 475 мл реагенту градуированной воды. Поместите разбавленный промывочный буфер в сдавливающую бутылку с узким открытым наконечником.

**Примечание:** Промывание состоит из наполнения каждой лунки до края, смешивания содержимого и повторного наполнения.

Избегайте образования пузырей в лунках во время этапов промывания.

## СБОР И ПОДГОТОВКА СЫВОРОТКИ

Серологические образцы должны быть собраны в асептических условиях. Коагулируйте кровь и заберите сыворотку. Избегайте гемолиза путем своевременного центрифугирования сыворотки. Хранить сыворотку при 2-8°C при использовании в течение нескольких дней. Заморозьте образцы при -20°C или ниже при хранении от 3 до 6 мес. Избегайте липемической или высоко гемолизированной сыворотки. Не нагревайте инактивированную сыворотку и избегайте повторного замораживания и оттаивания образцов.

Образцы для исследования: приготовьте 1:64 разбавление сывороток пациентов, используя буфер для разбавления (напр., 5 мкл сыворотки и 315 мкл буфера для разбавления).

## ПРОЦЕДУРА

### Поставляемые материалы

Серологический микролуночный набор ИФА для определения инфекции *Echinococcus*.

### Материалы необходимые, но не поставляемые

- Пипетки
- Сдавливающая бутылка для промывания стрипов (рекомендуется с узким наконечником)
- Реагент градуированной воды и градуированный цилиндр
- Пробирки для разбавления образцов
- Промокательная бумага

### Рекомендуемые материалы

Планшетный считыватель ИФА с 450 нм и 650-620 нм фильтром (необязательно, если результаты считываются визуально).

## ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Отделите необходимое число лунок (два контроля плюс число образцов) и поместите в держатель для стрипов.
2. Добавьте 100 мкл (или две капли) отрицательного контроля в лунку 1, 100 мкл положительного контроля в лунку 2 и 100 мкл разбавленных (1:64) образцов в оставшиеся лунки.  
**Примечание:** Отрицательные и положительные контроли поставляются разбавленными, не разбавляйте их дальше.
3. Инкубируйте при комнатной температуре (15-25°C) 10 минут.
4. Вытряхните содержимое и промойте 3 раза разбавленным промывочным буфером.
5. Добавьте по 2 капли ферментного конъюгата в каждую лунку.
6. Инкубируйте при комнатной температуре 5 минут.
7. Вытряхните содержимое и промойте 3 раза разбавленным промывочным буфером.
8. Резко ударьте лунками о бумажные полотенца для удаления остатков влаги.
9. Добавьте по 2 капли хромогена в каждую лунку.
10. Инкубируйте при комнатной температуре 5 минут.
11. Добавьте 2 капли стоп раствора и смешайте, постукиванием по рамке для стрипов.

## СЧИТЫВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Визуально:** посмотрите на каждую лунку на белом фоне (например, против бумажного полотенца) и зафиксируйте как чистая или +, ++ или +++ реакция.

**Считыватель ИФА:** обнулите считыватель вхолостую. Установите бихроматическое считывание при 450/650-620 нм.

## ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Серологические результаты используются в целях диагностики, но не должны использоваться как единственный метод диагноза.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование контролей дает возможность оценки стабильности набора. Не используйте набор, если один из контролей не попадают в границы.

Ожидаемые значения для контролей равны:

**Отрицательные** – 0,0 – 0,3 единиц ОП

**Положительные:** - 0,5 единиц ОП и выше

## ОБНАРУЖЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

Отрицательный контроль имеет чрезмерно насыщенный цвет после развития.

**Причина:** недостаточное промывание.

**Устранение:** промывайте более тщательно. Удалите остаток жидкости из лунок, постукиванием на промокательную бумагу.

Не давайте возможности исследуемым лункам высохнуть.

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – считыватель ИФА

Обнулите считыватель ИФА вхолостую. Считайте все лунки при 450/650-620 нм.

**Положительные** – считанная абсорбция равна или выше 0,3 единиц ОП.

**Отрицательные** – считанная абсорбция ниже 0,3 единиц ОП.

Отрицательное считывание ОП указывает, что пациент не имеет определяемого уровня антител. Это может быть по причине отсутствия инфекции или низкой иммунной реакции пациента.

## ИНТЕРПРИТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – ВИЗУАЛЬНАЯ

Сравните результаты с контролями. Образцы должны интерпретироваться как положительные, если степень развития цвета является значительной и явной.

## ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Число пациентом, демонстрирующих положительные результаты может значительно отличаться между совокупностями и географическими регионами. По возможности каждая лаборатория должна установить собственные нормальные границы для совокупности пациентов.

## РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Исследование №1 – CDC&P

		CDC&P	
		+	-
ДАИ	+	46	1
	-	1	11

**Чувствительность – 97,9% (46/47)**

**Специфичность – норма 91,7% (11/12)**

**Рак печени 66,6% (8/12)**

**Абсцесс печени 66,6% (6/9)**

**Стронгилоиды 50% (3/6) (сильная перекрестная реакция)**

**Аскарида (0/6) (сильная перекрестная реакция)**



## 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)