

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА АДЕНОВИРУСА В СТУЛЕ

### 8300-3, Adenovirus (Fecal)

Каталог. № : 8300-3  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 23-06-2008



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

#### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Набор DAI Adenovirus Antigen Detection ELISA - процедура *in vitro* для качественного определения антигена аденовируса в стуле. Основанный на принципе двойного антитела («сэндвича») методом иммуноферментного анализа (ELISA) используется поликлональное антитело анти-аденовируса, чтобы фиксировать антиген от супернатанта стула. Затем добавляется второе поликлональное антитело анти-аденовируса, которое связывается с комплексом. Эта реакция визуализируется добавлением анти-мышинных антител, конъюгированных с пероксидазой. Образовавшийся после добавления хромогена и пероксидазы синий цвет указывает на присутствие антигенов аденовируса, связанных антителами анти-аденовируса.

#### ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

В течение первой инкубации, антигены аденовируса, присутствующие в супернатанте стула, захватываются антителами, закрепленными на лунках. Вторая инкубация привлекает дополнительное антитело анти-аденовируса, которое «наслаивается» на антиген. Третья инкубация присоединяет пероксидазу хрена к многослойному материалу. После промывок для удаления несвязанного фермента добавляется хромоген, который развивает синий цвет в присутствии комплекса фермента и перекиси. Стоп раствор останавливает реакцию и превращает синий цвет в желтый.

#### РЕАГЕНТЫ

Позиция	Описание
Полоски для анализа	Микролуночки, покрытые поликлональными антителами анти-аденовируса - 96 лунок в рамке для полосок.
Реагент 1	1 бутылка с 11 мл моноклональных антител анти-аденовируса с синим красителем и тимеросалом.
Реагент 2	1 бутылка с 11 мл анти-мышинных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена с красным красителем и тимеросалом.
Положительный контроль	1 флакон с 2 мл буфера с тимеросалом.
Отрицательный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленных <i>Schistosoma</i> -отрицательных сывороток человека в буфере с тимеросалом.
Хромоген	1 бутылка с 11 мл тетраметилбензидина (ТМБ) и перекиси.
Промывочный концентрат (20x)	2 бутылки с 25 мл концентрированного буфера и тимеросала.
Стоп раствор	1 бутылка с 11 мл 1М фосфорной кислоты.

#### ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

**Исключение:** Промывочный концентрат может выпадать в осадок во время хранения в холодильнике, но растворяется после нагревания.

Не добавлять в образцы или в любые реагенты азиды.

Контроли и некоторые реагенты содержат тимеросал в качестве консерванта.

Обращайтесь со всеми образцами как с потенциально инфекционными материалами.

#### 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

Снимите колпачок и добавьте содержимое 1 бутылки промывочного концентрата к 475 мл дистиллированной воды. Перенесите содержимое разбавленного промывочного буфера в гибкую бутылку.

#### ОБРАЗЦЫ ДЛЯ АНАЛИЗА

##### Сбор стула (кала)

Стул необходимо собрать в чистые емкости.

Образцы должны храниться при 4°C и анализироваться в пределах 24 часов с момента сбора. Образцы, которые не анализируются в пределах этого времени должны заморозиться до использования при -20 °С. Замораживание образцов не воздействует неблагоприятно на анализ.

Все разбавления должны быть сделаны с разбавляемым промывочным буфером.

#### Подготовка образца

##### Свежие / замороженные образцы стула

Разморозьте замороженные образцы стула. Приготовьте разбавление стула 1:5 путем добавления 1 грамма (приблизительно размером с горошину) к 4 мл разбавленного промывочного буфера. Хорошо перемешайте и позвольте осесть тяжелым частицам.

Для образцов стула с диареей может использоваться более низкое разбавление (то есть, разбавление 1:2).

Замечание: Не формализуйте образцы перед анализом.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

##### Поставляемые материалы

Микролуночный ELISA набор для определения антигена аденовируса в стуле.

##### Требуемые, но не поставляемые материалы

- Пипетки.
- Гибкая бутылка для промывки полосок.
- Дистиллированная вода.
- Мерная колба.

##### Рекомендуемое оборудование

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

#### ПРОЦЕДУРА

1. Отломить требуемое количество лунок (две для контролей и определенного количества образцов) и положить в рамку для полосок.
2. Добавить 100 мкл отрицательного контроля в лунку #1, 100 мкл положительного контроля в лунку #2 (используйте оба как неразбавленные).
3. Добавить 100 мкл супернатанта стула в соответствующую лунку для анализа.
4. Инкубировать при комнатной температуре в течении 30 минут, затем промыть\*.
5. Добавить в каждую лунку по 2 капли реагента 1 (синий раствор).
6. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
7. Добавить в каждую лунку по 2 капли реагента 2 (красный раствор).
8. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
9. Добавить в каждую лунку по 2 капли хромогена.
10. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
11. Добавить в каждую лунку по 2 капли стоп раствора. Хорошо перемешать, постукивая по рамке для полосок.
12. Визуально считать результаты или на спектрофотометре, используя бихроматическое считывание с фильтром на 450 нм и 620-650 нм. В рабочем состоянии установить считыватель на ноль.

\* Промывки состоят из использования разбавленного промывочного буфера для заполнения до края каждой лунки, встряхивая содержимое и обратного заполнения лунки в общем количестве 3 раза. Избегайте образования пузырьков в лунках в течение этапов промывки.

Контроли должны быть включены во время каждой процедуры.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - визуальная:

**Реактивный:** Любая лунка с образцом, которая имеет явный и существенный желтый цвет.

**Нереактивный:** Любая лунка с образцом, которая не имеет явного желтого цвета.

**ЗАМЕЧАНИЕ:** Отрицательный контроль, также как и некоторые образцы, может показывать некоторый слабый цвет.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – ELISA считыватель:

В рабочем режиме установите на нуль планшетный считыватель ELISA. Считайте все лунки, используя бихроматическое считывание с фильтрами в 450 и 620-650 нм.

**Реактивный:** мера поглощения света считывания 0.15 и выше указывает на содержание образцом антигена аденовируса.

**Нереактивный:** мера поглощения света считывания меньше чем 0.15 указывает, что образец не содержит обнаруживаемых уровней антигена аденовируса.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Результаты анализа должны использоваться как вспомогательное средство в диагностике и не должны интерпретироваться как сам диагноз.

#### ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Нормальные здоровые личности не должны иметь аденовируса и должны показывать отрицательные результаты. Положительная реакция указывает, что пациент сбрасывает обнаруживаемые количества антигена аденовируса. Случаи инфекции аденовируса значительно отличаются между совокупностями, порой года, и географическими регионами. Никакой ожидаемый уровень распространенности не может быть установлен.

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Изучение #1 – против EM

К-во = 118

	EM		
		+	-
DAI	+	31	6
	-	0	81

**Чувствительность: 31/31 = 100%**

**Специфичность: 81/87 = 93%**

Изучение #2 – против другого ELISA набора

К-во = 116

	Другой ELISA набор		
		+	-
DAI	+	6	2
	-	0	108

**Чувствительность: 6/6 = 100%**

**Специфичность: 108/110 = 98%**

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование положительного и отрицательного контролей позволяет легко проверять стабильность набора. Для действительного анализа положительный контроль должен быть более чем 0.5 единиц ОП, и отрицательный контроль должен быть ниже 0.15 единиц ОП. Если значения вне этих диапазонов, набор не должен использоваться.

#### ОБНАРУЖЕНИЕ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ

**Проблема:** Отрицательный контроль значительно развил цвет.

**Исправление:** Несоответствующие промывки. Повторить анализ с более тщательными промывками.



**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)