

НАБОР ИФА

ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА *LEGIONELLA PNEUMOPHILIA* В МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА

8305-3, Legionella Urinary Antigen

Каталог. № : 8305-3

Методика от 24-06-2008

Количество : 96

Производитель: DAI (США)



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

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Данный анализ для определения антигена *Legionella pneumophila* в моче предназначен как дополнение к культивированию для предполагаемой диагностики прошлой или текущей «болезни легионеров» путем качественного определения антигена *Legionella pneumophila* в человеческой моче. Этот набор – диагностический иммунологический анализ *in vitro* (компании DAI), использующий пероксидазу как индикаторный фермент.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ – твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) двойного антитела (сэндвича), использующий антитело анти-*Legionella pneumophila*, чтобы захватить антиген из мочи. Затем добавляется второе антитело, конъюгированное с пероксидазой (HRP), которое связывается с комплексом. Эта реакция визуализируется после добавления хромогена тетраметилбензидина (TMB). Последующее развитие синего цвета указывает на наличие антигенов *Legionella pneumophila*, являющихся связанными антителами анти-*Legionella pneumophila*.

Позиция	РЕАГЕНТЫ
	Описание
Полоски для анализа	Микролунки, содержащие очищенные кроличьи IgG антитела анти- <i>Legionella pneumophila</i> .
Ферментный конъюгат	1 бутылка с 11 мл очищенного кроличьего IgG антитела анти- <i>Legionella pneumophila</i> , конъюгированного с HRP с красным красителем и тимеросалом.
Положительный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленного антигена <i>Legionella pneumophila</i> . в буфере с тимеросалом.
Отрицательный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленного буфера с тимеросалом.
Хромоген	1 бутылка с 11 мл тетраметилбензидина (TMB) и перекиси.
Промывочный концентрат (20x)	2 бутылки с 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества.
Стоп раствор	1 бутылка с 11 мл 1M фосфорной кислоты.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностического использования *in vitro*.

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. Соблюдайте осторожность во избежание аэрозолей и обеззараживайте любые брызги образцов.

Стоп раствор - 5 % раствор фосфорной кислоты в воде. При попадании на кожу промойте большим количеством воды. При попадании кислоты в глаза, промойте большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью.

Люди со световой слепотой или ухудшенным зрением могут не считать анализ визуально и должны и для интерпретации результатов должны использовать спектрофотометрические считывания.

Не используйте набор по истечении его срока годности.

Перед использованием приведите набор к комнатной температуре (15-25 °C).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, полоски и компоненты в бутылках: Хранить при 2-8°C.

Разбавленный промывочный буфер может храниться при комнатной температуре в течении 1 недели с момента приготовления.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Образцы мочи должны быть собраны в стандартные стерильные емкости, хранятся при комнатной температуре или в охлажденном виде (2-8 °C) и анализироваться в пределах 24 часов с момента сбора. Альтернативно, образцы могут храниться перед анализом при 2-8 °C до 14 дней или замораживаться (-70 °C) при более длительном хранении.

Всякий раз, когда возможно, образцы мочи должны транспортироваться при 2-8 °C или замораживаться

Образцы мочи, содержащие избыточные ураты, фосфаты, или другие растворенные соли могут образовать кристаллы соли во время хранения при 8°C или ниже. Обеспечьте, чтобы все образцы были комнатной температуры перед выполнением анализа.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Требуемые, но не поставляемые материалы

- Гибкая бутылка для промывки полосок (рекомендуется с узким наконечником) или промыватель микропланшета.
- Дистиллированная или деионизированная вода и мерная колба.
- Пипетки.
- Промокательное бумажное полотенце.

Рекомендуемое оборудование

ELISA спектрофотометр для дихроматических считываний при 450/620-650 нм.

Соответствующая температура

Все инкубации проводятся при комнатной температуре (15-25°C).

ПРОЦЕДУРА

1. Разбавьте бутылку 20x промывочного раствора дистиллированной водой до 500 мл. **ХОРОШО ПЕРЕМЕШАЙТЕ.**
2. Отломите требуемое количество лунок (две для контролей и определенного количества образцов) и положить в рамку для полосок. Возвратите все неиспользованные полоски в мешочек и герметично закройте замком.
3. Добавить 100 мкл отрицательного контроля в лунку #1, 100 мкл положительного контроля в лунку #2.
4. Добавить по 100 мкл образцов мочи в каждую лунку для анализа.
5. Инкубировать при комнатной температуре (15-25°C) в течении 30 минут, затем промыть*.
6. Добавить в каждую лунку по 2 капли конъюгата.
7. Инкубировать в течении 10 минут, затем промыть.
8. Добавить в каждую лунку по 2 капли хромогена. Инкубировать 5 минут. После этого этапа **НЕ ПРОМЫВАТЬ.**
9. Добавить в каждую лунку по 2 капли стоп раствора. Хорошо перемешать, постукивая по краям рамки для полосок.
10. Визуально считать результаты или дихроматически при 450/620-650 нм. В рабочем состоянии установить считыватель на нуль.

* Промывки состоят из тщательного заполнения каждой лунки до переливания и удаления содержимого 3 раза отдельно.

Контроли должны быть включены во время каждой процедуры.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – визуальная (ручная)

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

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

ЗАМЕЧАНИЕ: Отрицательный контроль, также как и некоторые образцы, может демонстрировать некоторый слабый цвет. Лунка образца должна быть явно темнее чем лунка отрицательного контроля, чтобы назвать результат положительным. Для сравнения цветов смотрите на прилагающуюся карточку визуального считывания.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – считыватель ELISA

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

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

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

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

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

Этот набор для анализа предназначен для использования только с образцами человеческой мочи. *Он не должен использоваться в целях не связанных с человеком.*

Отрицательный результат может случиться при уровне антигенов ниже чем пределы обнаружения этого анализа. Через какое-то время многие образцы пациентов могут оказаться подозреваемыми на положительный результат к *Legionella*.

Выделение антигена *Legionella* в моче может изменяться в зависимости от отдельно взятого пациента и стадии болезни. Некоторым людям потребовалось выделять антиген в течение длительного периода времени, так что положительная реакция ELISA может отражать недавнюю, но не активную инфекцию. Раннее лечение соответствующими антибиотиками может также уменьшить выделение антигена в некоторых людей. Выделение антигена может начинаться уже через 3 дня после начала признаков и сохраняться до года.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

	Набор ДАИ		
		+	-
Референтный метод	+	37	0
	-	2	234

Чувствительность: 37/39 = 88%

Специфичность: 234/234 = 100%

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Обычные здоровые люди не должны иметь *Legionella* и должны показывать отрицательные результаты, т.е., значение ОП менее чем 0,15 считывания абсорбции. Положительная реакция при 0,15 единицах ОП и выше указывает, что пациент сбрасывает обнаруживаемые количества антигена *Legionella*.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование положительного и отрицательного контролей позволяет легко проверять стабильность набора. Для действительного анализа положительный контроль должен иметь абсорбцию по крайней мере 0.5 единицы ОП и отрицательный контроль должен быть ниже 0.15 единицы 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.Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com