

# НАБОР ИФА ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА РОТАВИРУСА В ОБРАЗЦАХ СТУЛА

## 8306-3, Rotavirus (Fecal)

Каталог. № : 8306-3  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 25-06-2008



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

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

ELISA набор компании ДАИ для определения ротавируса – процедура *in vitro* для качественного определения ротавируса в образцах стула. Данный анализ – твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), основанный на принципе двойного антитела («сэндвича»), использует поликлональное антитело анти-ротавируса, чтобы захватить антиген из супернатанта стула. Затем добавляется второе моноклональное антитело анти-ротавируса, которое связывается с комплексом. Эта реакция визуализируется после добавления анти-мышинных антител, конъюгированных с пероксидазой. Образовавшийся после добавления хромогена синий цвет указывает на наличие антигенов ротавируса, связанных антителами анти-ротавируса.

### ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

В течение первой инкубации антигены ротавируса, присутствующие в супернатанте стула, захватываются антителами, закрепленными на лунках. При второй инкубации дополнительно вносится антитело анти-ротавируса, которое «наслаивается» на антиген. Во время третьей инкубации пероксидаза хрена присоединяется к слою материала. 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          | Микролунки, содержащие поликлональные антитела анти-ротавируса - 96 лунок в рамке для полосок.                    |
| Реагент 1                    | 1 бутылка с 11 мл моноклональных антител анти-ротавируса с синим красителем 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 разбавленного антигена ротавируса в буфере с тимеросалом.   |
| Отрицательный контроль       | 1 флакон с 2 мл буфера с тимеросалом.   |
| Хромоген                     | 1 бутылка с 11 мл тетраметилбензидина (ТМВ) 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°C. Гибкая бутылка с разбавленным промывочным буфером может храниться при комнатной температуре.

### ПОДГОТОВКА

#### Промывочный буфер/буфер для разбавления

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

### 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, необходимо заморозить до использования при -20 °C. Замораживание образцов не воздействует неблагоприятно на анализ.

Все разбавления должны быть сделаны разбавленным 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).

Примечание: перед использованием не формализуйте образцы.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ELISA набор для определения антигена ротавируса 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.

### 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, вытряхивая 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 насыщенный желтый цвет.

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

**ЗАМЕЧАНИЕ:** Отрицательный контроль, также как и некоторые образцы, может демонстрировать 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 ротавируса.

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

#### ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

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

#### ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

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

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Изучение #1 – против имеющегося в продаже набора с использованием методики растекания капли жидкости в радиальном направлении  
K-vo = 54

| Набор методики радиального растекания |   |    |    |
|---------------------------------------|---|----|----|
|                                       |   | +  | -  |
| DAI                                   | + | 19 | 1  |
|                                       | - | 0  | 34 |

**Чувствительность:** 19/19 = 100%

**Специфичность:** 34/35 = 97%

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