

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА E.HISTOLYTICA В ОБРАЗЦАХ СТУЛА

### 8307-3, E.histolytica/dispar

Каталог. № : 8307-3  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 24-06-2008



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

#### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор ELISA (ИФА) – *in vitro* иммуноанализ для качественного определения антигена E. histolytica в образцах стула. Данный анализ основанный на принципе двойного антитела («сэндвича»), использует антитело анти-E.histolytica, чтобы захватить антиген из супернатанта стула. Затем добавляется второе антитело анти-E.histolytica, которое связывается с комплексом. Эта реакция визуализируется после добавления второго антитела, конъюгированного с пероксидазой, и хромогена тетраметилбензидина (ТМВ). Образовавшийся синий цвет указывает на наличие антигенов E. histolytica, связанных антителами анти-E. histolytica.

#### ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

В течение первой инкубации антигена E. histolytica, присутствующие в супернатанте стула, захватываются антителами, закрепленными на лунках. При второй инкубации дополнительно вносится антитело анти-E. histolytica, которое “наслаивается” на антиген. В последующем второе антитело конъюгируется с пероксидазой. 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.

Позиция	РЕАГЕНТЫ	
		Описание
Полоски для анализа		Микролунки, содержащие поликлональные антитела анти-E. histolytica - 96 лунок в рамке для полосок.
Реагент 1	1 бутылка с 11 мл моноклональных антител анти-E. histolytica с синим красителем и тимеросалом.	
Реагент 2	1 бутылка с 11 мл анти-мышинной пероксидазы с красным красителем и тимеросалом.	
Положительный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленного антигена E. histolytica в буфере.	
Отрицательный контроль	1 флакон с 2 мл буфера стула.	
Хромоген	1 бутылка с 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМВ) и перекиси.	
Промывочный концентрат (20x)	2 бутылки с 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества с тимеросалом.	
Стоп раствор	1 бутылка с 11 мл 1М 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.

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

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

Гибкая бутылка с разбавленным промывочным буфером может храниться при комнатной температуре.

#### СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

##### Сбор стула (кала)

Не требуется никакого изменения методов сбора, используемых для стандартных микроскопических О/Р испытаний. Могут использоваться не обработанные консервантами или замороженные. Образцы стула, обработанные консервантом не должны использоваться в этом анализе.

Образцы должны храниться при 2 - 8°C и анализироваться в пределах 24 часов с момента сбора. Образцы, которые не анализируются в пределах этого времени, должны заморозиться до использования при -20°C или ниже. Замораживание образцов не воздействует неблагоприятно на анализ.

Формализованные, обработанные SAF образцы не могут использоваться в этом анализе.

Все разбавления образцов стула должны быть проведены с использованием разбавленного промывочного буфера.

Подготовка промывочного буфера - снимите колпачок и добавьте содержимое 1 бутылки промывочного концентрата 20x в гибкую бутылку с 475 мл дистиллированной воды. Перемешать. Для оптимизации промывок гибкая бутылка должна иметь узкий наконечник.

##### Подготовка свежих/замороженных образцов стула

При необходимости разморозьте образец. Добавьте достаточно разбавленного промывочного буфера, чтобы провести разбавление приблизительно 1:4 (1 грамм или размером с горошину образца стула с 3 мл разбавленного промывочного буфера) и хорошо перемешайте.

#### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ELISA набор для определения антигена E. histolytica 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.
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. Контроли должны быть включены во время каждой процедуры.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - визуальная:

**Реактивный:** Любая лунка с образцом, которая имеет более явный и насыщенный желтый цвет чем лунка отрицательного контроля.

**Нереактивный:** Любая лунка с образцом, которая явно не более желтая чем лунка отрицательного контроля.

**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.

#### 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 *E. histolytica*.

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

#### ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

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

НЕ концентрируйте образцы стула. Анализ не даст точных результатов при концентрированном образце. Отрицательный результат может быть получен при уровне антигенов ниже за пределы обнаружения этого анализа. Многократные выборки через какое-то время могут быть существенными для тех пациентов, которые подозреваются как положительные к *E. histolytica*.

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Изучение #1 – против метода микроскопии

К-во = 46

	Метод микроскопии		
		+	-
DAI	+	7	0
	-	1	38

**Чувствительность:** 7/8 = 88%

**Специфичность:** 38/38 = 100%

#### ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Обычные здоровые люди не должны иметь *E. histolytica* и должны показывать отрицательные результаты. Положительная реакция указывает, что пациент сбрасывает обнаруживаемые количества антигена *E. histolytica* или *E. dispar*.

#### 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.Чорновола, 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)