

НАБОР ИФА
ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИТЕЛ КЛАССА IgG K
STRONGYLOIDES STERCORALIS

8319-35, Strongyloides

Каталог. № : 8319-35

Методика от 03-21-2013

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.

| Анализ | Strongyloides ELISA |
|----------------------|---|
| Метод | Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов |
| Принцип | Непрямой ИФА; покрытый антигеном планшет |
| Диапазон обнаружения | Качественный положительный; отрицательный контроль |
| Образец | 5 мкл сыворотки |
| Специфичность | 100% |
| Чувствительность | 85% |
| Общее время | ~ 45 мин. |
| Срок годности | 12 мес. |

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Для качественного скрининга IgG антител в сыворотке к *Strongyloides stercoralis* с использованием методики твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Стронгилоидоз - болезнь, вызванная протозойным паразитом *Strongyloides stercoralis*. Этот организм - кишечная нематода, распространенная по всему миру, но особенно свойственна для тропических и субтропических регионов.

Болезнь обычно проявляется в кишечных симптомах (умеренный понос). В меньшей части случаев организм становится экстракишечным и может приводить к септическому шоку и менингиту.

Серологические анализы полезны в обнаружении инфекции *Strongyloides* если организм становится внекишечным и при исключении организма из диагностики других нарушений (особенно гематологических злокачественных развитий).

Пациенты, инфицированные *Strongyloides* - особенно в опасности серьезных осложнений, если они также иммунодепрессивные.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Микролуночки для анализа покрыты антигеном *Strongyloides*. В течение первой инкубации с разбавленными сыворотками пациентов, любые антитела, взаимодействующие с антигеном, связываются с покрытыми луночками. После промывки для удаления остатка образца добавляется ферментный конъюгат. Если антитела закрепятся на луночках, таким образом, ферментный конъюгат свяжется с этими антителами. После других этапов промывки добавляется хромоген (тетраметилбензидин/ТМБ). При наличии ферментного конъюгата пероксидаза катализирует реакцию, которая использует пероксид и превращает хромоген из прозрачного в синий. Добавление стоп раствора останавливает реакцию и превращает синий цвет в ярко-желтый. После этого реакцию можно считать визуально или с помощью иммуноферментного считывателя (ИФА).

| РЕАГЕНТЫ | |
|------------------------|--|
| Позиция | Описание |
| Полоски для анализа | Микролуночки, содержащие антигены <i>Strongyloides</i> - 96 луночек в рамке для полосок. |
| Ферментный конъюгат: | 1 бутылка с 11 мл белка А, конъюгированного с пероксидазой. |
| Положительный контроль | 1 флакон с 2 мл разбавленной положительной сыворотки кролика. |
| Отрицательный контроль | 1 флакон с 2 мл разбавленной отрицательной сыворотки человека. |
| Субстрат ТМБ | 1 бутылка с 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМБ). |

| | |
|------------------------------|--|
| Промывочный концентрат (20х) | 1 бутылка с 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества. |
| Буфер для разбавления | 2 бутылки с 30 мл раствора буферизованного раствора белка. |
| Стоп раствор | 1 бутылка с 11 мл 1М фосфорной кислоты. |

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не используйте растворы, если они выпадают в осадок или становятся мутными. Промывочный концентрат может кристаллизоваться во время хранения при 2-8°C. Кристаллизация исчезает после разбавления до рабочего состояния.

Не используйте сыворотку, которая, возможно, использовалась для поддержки роста микроорганизмов, или мутную сыворотку исходя из насыщенного содержания липидов. Образцы с высоким содержанием липидов должны быть перед использованием очищены.

Обращайтесь со всеми сыворотками как будто с инфекционными. Отрицательный контроль был проверен необходимыми методами и оказался отрицательным к поверхностному антигену гепатита В и к ВИЧ антителам. Так как никакое испытание не может предоставить полной гарантии, что возбудителей инфекций нет, это изделие должно использоваться в соответствующих безопасных условиях, которые бы использовались при любых потенциальных возбудителях инфекций.

Не добавлять в образцы или в любые реагенты азиды.

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 К АНАЛИЗУ

Промывочный буфер – снимите колпачок и добавьте содержимое бутылки к 475 мл дистиллированной воды. Перенесите разбавленный промывочный буфер в гибкую бутылку.

Замечание: промывки состоят из заполнения до края каждой лунки, встряхивания содержимого и обратного заполнения.

Избегать образования пузырьков в лунках в течение этапов промывки.

СБОР И ПОДГОТОВКА СЫВОРОТКИ

- Коагулируйте кровь и удалите сыворотку. Заморозьте образец до -20 °C или ниже если он не используется сразу.
- Не инактивируйте сыворотку теплом и избегайте повторного замораживания и размораживания образцов.
- Анализируемые образцы: Проведите разбавление сывороток пациентов 1:64 с помощью буфера для разбавления (напр., 5 мкл сывороток и 315 мкл буфера для разбавления).

ПРОЦЕДУРА

Поставляемые материалы

Микролуночный серологический набор ИФА для определения стронгилоидоза.

Требуемые, но не поставляемые материалы

- Пипетки.
- Гибкая бутылка для промывки полосок (рекомендуется узкий наконечник).
- Подготовленная для реагентов вода (дистиллированная) и мерная колба.
- Пробирки для разбавления образца.
- Промокательная бумага

Рекомендуемые материалы

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

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Отломить требуемое количество лунок (две для контролей и определенного количества образцов) и положить в рамку для полосок.
2. Добавить по 100 мкл (или 2 капли) отрицательного контроля в лунку #1, 100 мкл положительного контроля в лунку #2 и 100 мкл разбавленных (1:64) образцов для анализа в остальные лунки.
Замечание: Отрицательный и положительный контроли поставляются разбавленными. В дальнейшем не разбавлять.
3. Инкубировать при комнатной температуре (15 - 25°C) в течении 10 минут.
4. Встряхнуть содержимое и промыть 3 раза с разбавленным промывочным буфером *.
5. Добавить в каждую лунку по 2 капли ферментного конъюгата.

6. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
7. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером. Ударить лунками по бумажных полотенцам, чтобы удалить остаток влаги.
8. Добавить в каждую лунку по 2 капли хромогена.
9. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
10. Добавить по 2 капли стоп раствора и перемешать, постукивая по рамке для полосок.



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
www.diameb.com

СЧИТЫВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Визуально: Взглянуть на каждую лунку против белого фона (напр., бумажного полотенца) и зафиксировать как чистая реакция или +, ++ или +++.

ИФА-ридер: В рабочем состоянии установить ридер на нуль. Настроить на бихроматические считывания на 450/650-620 нм.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

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

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование контролей позволяет облегчить проверку стабильности набора. Набор не должен использоваться, если любой из контролей выходит за диапазон.

Отрицательный – 0,0 до 0,2 единицы ОП.

Положительный – 0,5 единиц ОП и выше.

ОБНАРУЖЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

Отрицательный контроль значительно развил цвет.

Проблема: Несоответствующие промывки.

Исправление: Удалите остаток жидкости из лунок постукивая ими на промокательном полотенце. Не позволяйте анализируемым лункам высыхать.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – ИФА-ридер

Настройте на нуль в рабочем режиме ИФА-ридер. Считайте все лунки при 450/650-620 нм.

Положительный – абсорбция считывания более 0,2 единицы ОП.

Отрицательный - абсорбция считывания менее 0,2 единицы ОП.

Положительное считывание ОП указывает, что пациент может быть инфицирован *Strongyloides*.

Отрицательное считывание ОП указывает, что пациент не имеет никакого обнаруживаемого уровня антител. Это может исходить из отсутствия инфекции или неполной иммунной реакции пациента.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - визуальная

Сравните результаты с контролями. Образец должен интерпретироваться как положительный, если насыщенность цвета значительна и очевидна.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Количество людей, демонстрирующих положительные результаты, может значительно меняться между совокупностями и географическими областями. Если возможно, каждая лаборатория должна установить ожидаемый диапазон для своей совокупности пациентов.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

| | Референтный метод | | |
|-----|-------------------|----|----|
| | | + | - |
| ДАИ | + | 14 | 0 |
| | - | 0 | 14 |

Специфичность: 14/14 = 100%

Чувствительность: 14/14 = 100%.