

НАБОР ИФА

ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО СКРИНИНГА АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К *SCHISTOSOMA* *SPP.*

EIA-3512, Schistosoma IgG ELISA

Каталог. № : EIA-3512
Количество : 96
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 29-04-2014
Версия 4.0



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

Предназначение

Иммуноферментный анализ для качественного скрининга антител класса IgG к *Schistosoma spp.* в сыворотке человека.

Принцип анализа

Во время первой инкубации антитела в образцах сыворотки пациента вступают в реакцию с антигенами на поверхности лунок. Следующая инкубация позволяет ферменту связаться с комплексом Аг-Ат. После нескольких промывок, необходимых для удаления остатков не связавшегося фермента, добавляется субстрат, который вырабатывает голубое окрашивание в присутствии ферментного комплекса и пероксидазы. Для остановки индикаторной реакции добавляется стоп раствор, в результате чего голубое окрашивание меняется на желтое.

Реагенты

- Тест полоски: микролунок, содержащие антигены *Schistosoma SEA* – 96 тест-лунок в держателе тест-полосок.
- Ферментный конъюгат: один флакон, содержащий 11 мл протеина А конъюгированного с пероксидазой в стабилизирующем буфере с тимеросалом.
- Положительный контроль: один флакон, содержащий 1 мл разведенной в буфере с тимеросалом положительной сыворотки.
- Отрицательный контроль: один флакон, содержащий 1 мл разведенной в буфере с тимеросалом отрицательной сыворотки.
- Хромоген: один флакон, содержащий 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМБ).
- Промывочный концентрат (20X): один флакон, содержащий 25 мл концентрированного буфера и сурфактанта с тимеросалом.
- Буфер для разведения: два флакона, содержащих 30 мл буферного раствора протеина с тимеросалом.
- Стоп раствор: один флакон, содержащий 11 мл. 0.73 М фосфорной кислоты.

Меры предосторожности:

- Не рекомендуется использовать мутные растворы или же если в них содержится осадок.
- Промывочный концентрат может кристаллизоваться при хранении при температуре 4 °С. Кристаллизация исчезнет после разведения концентрата для работы с ним.
- Не рекомендуется использовать сыворотку, побуждающую рост микробов или же мутную из-за высокого содержания липидов. Перед использованием образцы с высоким содержанием липидов необходимо очистить.
- Не следует добавлять азиды в образцы, или какие-либо реагенты.
- Некоторые реагенты и контроли содержат тимеросал в качестве стабилизатора.
- С сывороткой необходимо обращаться как с инфекционным веществом.
- Отрицательный контроль был протестирован и определен как отрицательный к поверхностному антигену гепатита В и к антителу к ВИЧ. Этот продукт необходимо использовать в соответствии с определенными мерами безопасности.
- Использовать новые наконечники для пипеток для каждого образца и реагента во избежание загрязнения.
- Реагенты необходимо проверять на наличие загрязнения.
- Не использовать микролунок повторно.

- Все компоненты набора были стандартизированы. Не менять компоненты из разных наборов или партий.

Условия хранения

Реагенты, стрипы и компоненты, содержащиеся во флаконах:

- Хранить при температуре 2 – 8 °С.
- Гибкий флакон, содержащий разведенный промывочный буфер, можно хранить при комнатной температуре.

Подготовка

Промывочный буфер – Добавить содержимое флакона в 475 мл воды, содержащей реагенты. Поместить разведенный промывочный буфер в гибкий флакон с узким горлышком.

Замечание: Промывка состоит из следующих этапов: наполнение каждой лунки до краев, перемешивание содержимого и повторного наполнения лунок.

Во время промывки избегайте образования в лунках пузырьков.

Тестовые образцы: приготовить 1:40 раствора сыворотки пациента, используя буфер для разведения (например, 10 мкл сыворотки + 390 мкл буфера для разведения).

Забор и подготовка сыворотки

Серологические образцы должны быть собраны в стерильных условиях. Дать крови свернуться и извлечь сыворотку. Гемолиза возможно избежать благодаря незамедлительному отделению сыворотки от сгустка. Сыворотку можно хранить при 2-8 °С, если она будет анализироваться на протяжении нескольких дней. Заморозить образец при -20 °С или ниже, в случае, если образец будет храниться от 3 до 6 месяцев. Не использовать липемические и сильно гемолитические образцы.

НЕ инактивировать сыворотку нагреванием.

Избегать повторного замораживания/оттаивания образцов.

Материалы

Материалы, поставляемые в наборе:

Набор *Schistosoma Serology Microwell* ИФА.

Необходимые материалы, не поставляемые в наборе

- Пипетки
- Гибкий флакон для промывки стрипов.
- Дистиллированная вода.
- Планшетный ридер ELISA с 450 нм и фильтр на 650- 620 нм (данные компоненты необязательны, если результаты можно увидеть наглядно).
- Пробирки для разведения образцов
- Таймер

Выполнение анализа

1. Необходимое количество лунок (две для контролей плюс количество образцов и одну для бланка) поместить в держатель.
2. Добавить 100 мкл Отрицательного Контроля в лунку №1, 100 мкл Положительного Контроля в лунку №2 и 100 мкл разведенных (1:40) тест образцов в оставшиеся лунки. Замечание: Отрицательный и Положительный Контроли поставляются уже в разведении виде. НЕ следует повторно разводить их.
3. Инкубировать при комнатной температуре (15-25 °С) 10 минут.
4. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза разведенным промывочным буфером*.
5. Добавить 2 капли (100 мкл) ферментного конъюгата в каждую лунку.
6. Инкубировать при комнатной температуре в течение 10 минут.
7. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером.
8. Добавить 2 капли (100 мкл) хромогена в каждую лунку.
9. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.
10. Добавить 2 капли (100 мкл) стоп раствора.
11. Нулевой ELISA Ридер устанавливается для двухцветных считываний при 450/650-620 нм.

Во время промывки избегайте образования в лунках пузырьков.

Все испытания нужно проводить с внедрением контрольных сывороток.

Ограничения процедуры

Серологические результаты не рекомендуется использовать как единственный диагностический метод.

Интерпретация результатов

Спектрофотометр:

Считать результаты всех лунок используя бихроматическое считывание при 450 нм и 620-650 нм.

Положительный - Считывание оптической плотности соответствует или превышает 0.2 оптических единиц.

Отрицательный - Считывание оптической плотности менее чем 0.2 оптических единиц.

Наглядная интерпретация: образец необходимо рассматривать как положительный в случае значительного и явного проявления цвета.

Контроль качества

Использование положительного и отрицательного контролей позволяет легко определить работу набора. Для того, чтобы тест считался действительным, положительный контроль должен составлять 0.5 Единиц ОП и Отрицательный Контроль должен быть ниже 0.2 единиц ОП. Не рекомендуется использовать набор, если хотя бы один из контролей находится вне предполагаемого предела.

Выявление неисправностей

Проблема: отрицательный контроль после проявления имеет насыщенный цвет.

Причина: недостаточно промывок. Промыть тщательнее.

Рабочие характеристики

		Референсный метод*	
		+	-
DRG	+	12	6
	-	0	34

Положительная согласованность: 100% (12/12)

Отрицательная согласованность: 85% (34/40)



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