

**НАБОР ИФА**  
**ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО СКРИНИНГА**  
**АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К TRICHINELLA В**  
**СЫВОРОТКЕ**

**EIA-3521, Trichinella spiralis IgG ELISA**

Каталог. № : **EIA-3521**  
Количество : **96**  
Производитель: **DRG (Германия)**

Методика от **15-06-2011**  
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 *Trichinella* в сыворотке.

**СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

Трихинеллез – это инвазия, вызываемая нематодой *Trichinella spiralis*, которая попадает в пищеварительный тракт из сырого или недожаренного мяса (преимущественно свинины). Хотя эти нематоды встречаются повсеместно в животном мире, домашние свиньи – первичный источник инвазии у развивающихся наций. Серология была важным инструментом в диагностике трихинеллеза в течение нескольких десятилетий. Использовались различные методы, такие как ИФА, латексная агглютинация (ЛА), непрямая гемагглютинация (НГА) и бентонитовая флокуляция (БФ). Несмотря на то, что были обнаружены различные классы антител, ни один из них не превосшел другие по диагностической значимости. БФ был методом выбора в серологии, но его недостатки – отсутствие специфичности реакции, недостаток чувствительности (измеряемые антитела не появлялись до 3 – 4 недель после инвазии) и сложность постановки. Недавно из личинок от инфицированных свиней был очищен экскреторно-секреторный (ЭС) антиген. Этот антиген высоко специфичен к *T. spiralis* и был использован в некоторых крупных исследованиях.

**ПРИНЦИП АНАЛИЗА**

Микротитровальные лунки покрыты экскреторным антигеном *Trichinella*. Во время первой инкубации с разведенными образцами сыворотки пациента, любые антитела, вступающие в реакцию с антигеном, свяжутся с покрытыми лунками. После промывки (для удаления остатков образца) добавляется Ферментный Конъюгат. В случае если антитела связались с лунками, то ферментный конъюгат свяжется с этими антителами. После второй промывки добавляется хромоген (тетрамилбензидин или ТМБ). В присутствии ферментного конъюгата, пероксидаза катализирует реакцию, которая поглощает перекись и меняет окрашивание хромогена на голубое. Для остановки индикаторной реакции добавляется стоп раствор, в результате чего голубое окрашивание меняется на желтое. Реакцию можно увидеть как наглядно, так и с помощью ELISA ридера.

**РЕАГЕНТЫ**

- Тест полоски: микролунки, содержащие антигены *Trichinella* – 96 или 48 тест лунок в держателе тест полосок.
- Ферментный конъюгат: один флакон, содержащий 11 мл Протеина А, конъюгированного к пероксидазе.
- Положительный контроль сыворотки: один флакон, содержащий 1 мл разведенной положительной кроличьей сыворотки.
- Отрицательный контроль сыворотки: один флакон, содержащий 1 мл разведенной отрицательной сыворотки человека.
- Хромоген: один флакон, содержащий 11 мл хромогена тетрамилбензидина (ТМБ).
- Промывочный раствор (20X): один флакон, содержащий 25 мл концентрированного буфера и ПАВ.
- Буфер для разведения: два флакона, содержащие 30 мл буферного раствора протеина.
- Стоп раствор: один флакон, содержащий 11 мл 0.73 М фосфорной кислоты.

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

- Не рекомендуется использовать мутные растворы или те, в которых содержится осадок. Промывочный концентрат может

кристаллизоваться при хранении при температуре 2-8° С. Кристаллизация исчезнет после растворения 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.
- С сывороткой необходимо обращаться как с инфицированным 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.
- Не следует добавлять азиды в образцы, или какие-либо реагенты.

**УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ**

Реагенты, стрипы и компоненты, содержащиеся во флаконах:

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

**ПОДГОТОВКА**

**Промывочный буфер** – Добавить содержимое флакона с 475 мл в воду, содержащую 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.

**ЗАБОР И ПОДГОТОВКА СЫВОРОТКИ**

Дать крови свернуться и извлечь сыворотку. Заморозить образец до -20° С или ниже, в случае, если образец не используется.

Не нагревать инактивированную сыворотку и избегать повторного замораживания образцов.

**Тест образцы:** приготовить 1:64 раствора сыворотки пациента, используя буфер для разведения (напр. 5 мкл сыворотки и 315 мкл буфера для разведения).

**ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА**

**Материалы, поставляемые в наборе**

Набор ELISA *Trichinella* Serology Microwell

**Необходимые материалы, не поставляемые в наборе**

1. Пипетки
2. Гибкий флакон для промывки стрипов (рекомендуется с узким горлышком)
3. Вода, содержащая реагенты и градуированная емкость
4. Пробирки для разведения образцов
5. Промокательная бумага

**Дополнительные рекомендуемые материалы**

Планшетный ридер ELISA с 450 нм и фильтр на 650 - 620 нм (данные компоненты необязательны, если результаты можно увидеть наглядно).

**ВЫПОЛНЕНИЕ АНАЛИЗА**

1. Необходимое количество лунок (две для контролей плюс количество образцов) поместить в держатель.
2. Добавить 100 мкл (или же 2 капли) отрицательного контроля в лунку №1, 100 мкл положительного контроля в лунку №2 и 100 мкл разведенных (1:64) тестовых образцов в оставшиеся лунки.

Замечание: Отрицательный и положительный контроли поставляются уже в разведенном виде. Не следует повторно разводить их.

3. Инкубировать при комнатной температуре (15 до 25° С) 10 минут.
4. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза разведенным промывочным буфером.
5. Добавить 2 капли ферментного конъюгата в каждую лунку.
6. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.
7. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером. Удалить остатки жидкости с помощью бумажного полотенца.
8. Добавить 2 капли хромогена в каждую лунку.
9. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.
10. Добавить 2 капли стоп раствора и тщательно смешать.

**ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ**

**Визуально:** Посмотрите на каждую лунку на белом фоне (напр. бумажное полотенце) и запишите +, ++ или же +++ реакции.

**ELISA Ридер:** Обнулите ридер по воздуху. Установите для бихроматических считываний при 450/650-620 нм.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Серологические результаты не рекомендуется использовать как единственный диагностический метод.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование контролей способствует стабильности набора. Не рекомендуется использовать набор, если хотя бы один из контролей находится вне предполагаемого предела. Ожидаемые значения для контролей следующие:

**Отрицательные** – от 0.0 до 0.3 единиц оптической плотности.

**Положительные** - 0.5 единиц оптической плотности и выше.

#### ВЫЯВЛЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

Отрицательный контроль после проявления имеет насыщенный цвет.

**Причина:** недостаточно промывок.

**Устранение:** промыть тщательнее. Извлечь остатки жидкости из лунок, выстучав ее на промокательную бумагу. Не дать лункам полностью высохнуть.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - ELISA РИДЕР

Нулевой ELISA ридер. Считать все лунки при 450/650-620 нм.

**Положительное** – считывание оптической плотности соответствует или превышает 0.3 ОП единиц.

**Отрицательное** - считывание оптической плотности менее чем 0.3 ОП единиц.

Отрицательное считывание ОП указывает на то, что у пациента не обнаружено открытого уровня антител. Причиной тому может служить отсутствие инфекции или же слабая иммунная реакция пациента.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - НАГЛЯДНО

Сравните результаты с контролями. Образец необходимо рассматривать как положительный в случае значительного и явного проявления цвета.

#### ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Количество людей с положительными результатами может значительно изменяться в зависимости от населения и географических районов проживания. По возможности, каждой лаборатории рекомендуется устанавливать свои предполагаемые пределы обследуемой группы больных.

#### ДАННЫЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Исследование №1: Референс Центр Канады

Сравнение DRG ELISA с другой коммерческой продукцией ELISA. Обнаружено соответствие 85.4% (N=82).

Исследование №2: Центр Контроля и Профилактики Заболеваний (CDC&P)

		CDC&P	
		+	-
EIA-352	+	43	1
	-	2	15

Чувствительность (биопсия положительная) 94,4% (17/18).

Чувствительность (вспышка симптомов) 96,3% (26/27).

#### Специфичность

Нормальные 93,8% (15/16)

Аскарида 100% (6/6)

Плоские черви 83,3% (5/6)

Угрица 83,3% (5/6)

Токсокара 66,6% (5/6)

Власоглав 83,3% (5/6)



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