



## Набор для определения ЛЕПТОСПИРА IgG

**Кат. номер** : 8204-3  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DAI (США)

**Внимание:** основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Данный ELISA набор предназначен для определения антител к *Leptospira biflexa* для серологического подтверждения инфекции в сыворотке и плазме. Данный тест предназначен для использования опытным персоналом.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Микрокапсулы покрыты очищенным *Leptospira Patoc* 1 антигеном. Во время первой инкубации с разбавленной сывороткой пациента, любые антитела, которые реагируют с антигеном, связываются с покрытыми ячейками. После промывания для удаления оставшегося образца, добавляется ферментный конъюгат. Если антитела связаны с ячейками, ферментный конъюгат потом связывается с этими антителами. После следующей серии промывания, добавляется ТМВ. Если присутствует ферментный конъюгат, пероксидаза катализирует реакцию, что использует перекись и обращает свет хромогена на голубой. Добавление стоп раствора заканчивает реакцию и обращает цвет с голубого на ярко желтый. Реакция потом может считываться визуально или с помощью ELISA ридером.

### РЕАГЕНТЫ

- **Тестовые стрипы:** микрокапсулы, содержащие антиген *Leptospira* – 96 тестовых ячеек в держателе стрипов.
- **Ферментный конъюгат:** 1 бут., содержащая 11 мл античеловеческого IgG, конъюгированного пероксидазой.
- **Положительная контрольная сыворотка:** 1 фл., содержащий 1 мл разбавленной положительной человеческой сыворотки.
- **Отрицательная контрольная сыворотка:** 1 фл., содержащий 1 мл разбавленной отрицательной человеческой сыворотки.
- **Хромоген:** 1 бут., содержащая 11 мл ТМВ.
- **Концентрат моющего раствора (20х):** 1 бут., содержащая 25 мл концентрированного буфера и поверхностно активного вещества.
- **Буфер для разбавления:** 2 бут., содержащие 30 мл буферного раствора протеина.
- **Стоп раствор:** 1 бут., содержащая 11 мл 1 М фосфорной кислоты.

### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

Не используйте растворы, если есть осад или помутнение. Моющий концентрат может показывать кристаллизацию при хранении при 2-8°C. Кристаллизация растворяется после разбавления до рабочего состояния.

Буфер для разбавления является коллоидным раствором. Он проявляет непрозрачность и имеет форму осадка.

Не используйте сыворотку, что может сопровождаться микробиологическими культурами, или мутную, через высокое содержание липидов. Образцы при высоком содержании липидов, необходимо очистить перед использованием.

Работайте с образцами, как с потенциально инфицированными.

Не добавляйте азиды к образцам или другим реагентам.

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, стрипы и компоненты:

Хранить при 2-8°C.

Сдавливающая бутылка, содержащая разбавленный моющий буфер может храниться при комнатной температуре.

### СБОР И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Данный анализ необходимо проводить с использованием сыворотки. Сыворотка может храниться при 2-8°C до 5 дней. Сыворотка может заморозить до -20°C для более длительного хранения. Не рекомендуется замораживать цельные образцы крови.

Одиночные образцы используются для оценки выделения; два образца, собранные в разный период от одних и тех же индивидов используются для сероконверсии. Пару образцов необходимо тестировать в одно и тоже время. Рекомендуется, что б выздоравливающая сыворотка была собрана у пациентов, что показывают или начальные не реактивные или слабо реактивные результаты.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

*Leptospira* микрокапсульный ELISA набор.

### МАТЕРИАЛЫ НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ

- Пипетки
- Сдавливающая бутылка для промывания стрипов (рекомендуется с узким наконечником)
- Реагент градуированной воды и градуированный цилиндр
- Пробирки для разбавления образцов
- Абсорбирующая бумага

### РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ELISA планшетный ридер с 450 нм и 650-620 нм фильтром (необязательно, если результаты считываются визуально).

### ПРОЦЕДУРА

**Моющий буфер:** Удалите крышку и добавьте содержимое бутылки к 475 мл реагенту градуированной воды. Поместите разбавленный моющий буфер в сдавливающую бутылку с узким открытым наконечником.

Примечание: Промывание состоит из наполнения каждой ячейки до края, смешивания содержимого и опустошения. Избегайте образования пузырей в ячейках во время шага промывания.

Коагулируйте кровь и заберите сыворотку. Заморозьте образцы при -20°C или ниже, если не используете немедленно.

Не нагревайте инактивированную сыворотку и избегайте повторного замораживания и оттаивания образцов.

Тестовый образец: приготовьте 1:40 разбавления сыворотки пациента, используя буфер для разбавления (напр., 10 мкл сыворотки и 390 мкл буфера для разбавления).

### ПРОЦЕДУРА

1. Отделите необходимое число ячеек (два контроля плюс число образцов) и поместите в держатель для стрипов.
2. Разбавьте сыворотку пациента 1:40 В БУФЕРЕ ДЛЯ РАЗБАВЛЕНИЯ. Добавьте 100 мкл отрицательного контроля в ячейку 1, 100 мкл положительного контроля в ячейку 2 и 100 мкл образцов в оставшиеся ячейки.
3. Инкубируйте при комнатной температуре (15-25°C) 10 минут.
4. Вытряхните содержимое и промойте 3 раза разбавленным моющим буфером.
5. Добавьте 2 капли ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте при комнатной температуре 10 минут.
7. Вытряхните содержимое и промойте 3 раза разбавленным моющим буфером.
8. Потрясите ячейки над бумажным полотенцем для удаления жидкости.
9. Добавьте 2 капли хромогена в каждую ячейку.
10. Инкубируйте при комнатной температуре 5 минут.
11. Добавьте 2 капли стоп раствор и смешайте, постукиванием по держателю.
12. Считайте в течении одного часа, добавлением стоп раствора.

### СЧИТЫВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Визуально:** наблюдайте каждую ячейку против белой основы (например, бумажного полотенца) и записывайте как чистый или +, ++ или +++ реакция.

**ELISA ридер:** обнулируйте ридер против воздуха. Установите бихроматическое считывание при 450/620-650 нм.

**ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ**

Серологические результаты используются в целях диагностики, но не должны использоваться как единственный метод диагноза.

ELISA тест не может гарантировать, что все виды будут реагировать одинаково.

Не используйте ветеринарные образцы.

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Использование контролей дает возможность оценки стабильности набора. Не используйте набор, если один из контролей не попадают в границы.

Ожидаемые значения для контролей равны:

**Отрицательные** – 0,0 – 0,3 единиц ОП

**Положительные:** - 0,5 единиц ОП и выше

**УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ**

Отрицательные результаты имеют чрезмерный цвет после развития.

**Причина:** неадекватное промывание

**Устранение:** промывайте более тщательно. Удалите остаток жидкости из ячеек, постукиванием на абсорбирующую бумагу. Не давайте возможности тестовым ячейкам высохнуть.

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ТЕСТА**

**Изначально неактивные:** Образцы, интерпретируются как отрицательные (0,0 – 0,3 ОП единиц или нулевой цвет) указывают, что антитело не присутствует в образце. Поскольку антитело может не присутствовать во время ранней стадии болезни (5-8 дней инкубация), необходимо подтверждение 2-3 неделями спустя для лабораторного диагноза. В это время пациенты, показывающие слабую реакцию (0,5 - ≤1,0 или +, ++), должны дальше тестироваться альтернативными методами или повторно тестироваться 10-14 неделями спустя. Выздоровливающая сыворотка при значительной реакции (>1,0 ОП) показывает формирование антитела против лептоспиры. Изначально отрицательные результаты с дальнейшими положительными подразумевают сероконверсию.

**Изначально слабо реактивные:** Слабо реактивные образцы должны интерпретироваться с осторожностью. В нормальной популяции слабо реактивные образцы являются нечастыми, но возможными. Рекомендуется использование образцов, собранных 2-3 неделями спустя (пара острой и выздоравливающей сыворотки). >1,0 ОП второго образца подтверждает присутствие недавнего, специфического антитела. (Внимание: если это перекрестно реактивное антитело, выздоравливающая сыворотка может не показать высший уровень антитела, чем острый образец). Если считывание образца остается ≥0,5 - ≤ 1,0 ОП или +, ++ вторая методология должна приниматься или образцы могут интерпретироваться как взятые сверх возрастающего титра (титр уменьшается).

**Изначально реактивные:** Образцы, что интерпретируются как сильно реактивные (> 1,0 ОП или +++ или >), могут указывать на присутствие специфического антитела. Присутствующее антитело одно не можно использовать для диагностики острой инфекции, поскольку антитела от первого выделения могут циркулировать большой период времени.

**ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ**

Лечение часто проводят до подтверждения серологического диагноза, что требует по крайней мере 2 недели. Острый лептоспироз должен поддаваться лечению немедленно, не ожидая серологического подтверждения. Диагноз инфекции лептоспироза не должен основываться только на ELISA результатах, а вместе с другими клиническими заключениями и симптомами и лабораторными данными.

При постановке диагноза должны учитываться эпидемиологические факторы, клинические данные, выделение к эндемическим регионам и другие лабораторные результаты.

Известно много видов лептоспиры. Много видов являются географически доминантными в некоторых регионах, а в других нет. *Viflexa Patos 1* известна как перекрестно реактивная с многими серовидами, но обычно не перекрестно реактивные с видами животных.

Относительная сила реакции может варьировать за антигеном. Это нужно принимать во внимание во время интерпретации. Использовать культуру или MAT тест рекомендуется для подтверждения, является ли тест специфическим к серовиду.

Поскольку метод серологического анализа может давать разные результаты для слабо реактивных образцов, другой серологический метод (напр. альтернативный метод, что отдельно отличает IgM и IgG антитело) рекомендуется использовать.

**ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ**

Число антител положительных субъектов в популяции зависит от двух факторов: преобладание заболевания и клинические критерии, что используются для тестирования популяции. Поскольку несколько положительные результаты должны наблюдаться при случайном скрининге популяции в не-эндемической территории, большинство серологических тестов являются неспецифическими даже при скрининге не-эндемической популяции. Даже в эндемической территории, серологический скрининг часто дает фальшиво положительные результаты, если используется для случайного скрининга пациента.

Серологические тесты полезны для тестирования пациентов в эндемической территории со знаками и симптомами, совместимыми с заболеванием.

Уровень антитела обычно низкий или отсутствует во время ранней инфекции. Симптоматические пациенты могут не иметь антитела во время 1-2 недели после выделения и титр антитела увеличивается со временем.

**ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Специфические данные доступны по запросу.

**ЛИТЕРАТУРА**

(См. в оригинале инструкции).

**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:**

**ЧМП «ДИАМЕБ»**

Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)

[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

