



Набор ИФА для качественного определения антител к инфекции *Schistosoma* spp.

Каталог. № :8209-3
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 20-06-2008

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

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Для качественного определения в первую очередь IgG антител в сыворотке людей к *Schistosoma* spp. с использованием методики твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA).

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

В течение первой инкубации антитела сыворотки пациентов связываются с антигенами в анализируемой лунке. Последующая инкубация позволяет ферментному комплексу связаться с комплексом антиген-антитело. После нескольких промывок для удаления несвязанных ферментов добавляется субстрат, который в присутствии ферментного комплекса и перекиси образует синий цвет. Стоп раствор останавливает реакцию, превращая синий цвет в желтый.

РЕАГЕНТЫ

Позиция	Описание
Полоски для анализа	Микролуны, содержащие антигены <i>Schistosoma</i> SEA - 96 лунок в рамке для полосок.
Ферментный конъюгат:	1 бутылка с 11 мл пероксидазы (HRP) белка А в стабилизирующем буфере с тимеросалом.
Положительный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленных <i>Schistosoma</i> -положительных сывороток кролика в буфере с тимеросалом.
Отрицательный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленных <i>Schistosoma</i> -отрицательных сывороток человека в буфере с тимеросалом.
Хромоген	1 бутылка с 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМВ).
Промывочный концентрат (20х)	1 бутылка с 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества с тимеросалом.
Буфер для разбавления	2 бутылки с 30 мл раствора буферизованного раствора белка с тимеросалом.
Сток раствор	1 бутылка с 11 мл 1М фосфорной кислоты.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не используйте растворы, если они выпадают в осадок или становятся мутными.

Промывочный концентрат может кристаллизироваться после хранения при 4°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.

Не добавлять в образцы или в любые реагенты азиды.

Контроли и некоторые реагенты содержат тимеросал в качестве консерванта.

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.

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.

Анализируемые образцы: Проведите разбавление сывороток пациентов 1:40 с помощью буфера для разбавления.

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.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов.

МАТЕРИАЛЫ

Поставляемые материалы

Микролуночный серологический ELISA набор для определения шистосомоза.

Требуемые, но не поставляемые материалы

- Пипетки.
- Гибкая бутылка для промывки полосок.
- Дистиллированная вода.
- ELISA спектрофотометр для считывания планшетов с фильтром 450/620-650 нм (выборочно, результаты могут считываться визуально).
- Пробирки для разбавлений сыворотки.

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 и 100 мкл разбавленных (1:40) образцов для анализа в остальные лунки.

Замечание: Отрицательный и положительный контроли поставляются разбавленными. Не разбавлять.

3. Инкубировать при комнатной температуре (15 - 25°C) в течении 10 минут.

4. Вытряхнуть 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 10 минут.

7. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером.

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.

11. В рабочем состоянии установить на ноль планшетный считыватель ELISA, считайте лунки при 450 нм с референтным фильтром при 620-650 нм или считать результаты визуально.

* Промывки состоят из использования разбавленного промывочного буфера для заполнения до края каждой лунки, встряхивания содержимого и обратного заполнения лунок в общем количестве 3 раза.

Избегайте образования пузырьков в лунках в течение этапов промывки.

Контроли должны быть включены во время каждой процедуры.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

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

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Спектрофотометр:

В рабочем режиме установите на ноль планшетный считыватель ELISA. Считайте все лунки, используя бихроматическое считывание с фильтрами в 450 и 620-650 нм.

Положительный - мера поглощения света считывания больше или равна 0.2 единицы ОП.

Отрицательный - мера поглощения света считывания меньше чем 0.2 единицы ОП.

Визуальная:

Образец должен интерпретироваться как положительный если степень цветного развития очевидна и значительна.

ОБНАРУЖЕНИЕ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ

Проблема: Отрицательный контроль значительно развил цвет.

Исправление: Несоответствующие промывки. Повторить анализ с более тщательными промывками.

Рабочие характеристики			
Референтный метод			
		+	-
ДАИ	+	12	6
	-	0	34

Чувствительность: $12/12 = 100\%$

Специфичность: $34/40 = 85\%$

Литература:

(См. в оригинале инструкции).

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 а/я 742
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775 612
 E-mail: info@diameb.com