



Набор ИФА для качественного определения IgG антител к инфекции *Strongyloides stercoralis*

Каталог. № : 8319-3
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 20-06-2008

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

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

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

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

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 экстра-кишечным и может приводить к септическому шоку и менингиту.

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

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

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Микролуночки для анализа покрыты антигеном *Strongyloides*. В течение первой инкубации с разбавленными сыворотками пациентов, любые антитела, взаимодействующие с антигеном связываются с покрытыми лунками. После промывки для удаления остатка образца добавляется ферментный конъюгат. Если антитела закрепятся на лунках, таким образом, ферментный конъюгат свяжется с этими антителами. После других этапов промывки добавляется хромоген (тетраметилбензидин/ТМВ). 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 (ELISA).

РЕАГЕНТЫ

Позиция	Описание
Полоски для анализа	Микролуночки, содержащие антигены <i>Strongyloides</i> - 96 лунок 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.
Хромоген	1 бутылка с 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМВ).
Промывочный концентрат (20x)	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.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

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 ELISA набор 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

- Планшеточный считыватель ELISA для считывания планшетов с фильтром 450/620-650 нм (выборочно, результаты могут считываться визуально).

ПРОЦЕДУРА

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. 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 5 минут.

7. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером. Ударить лунками по бумажным 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.

Считывание результатов

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

Считыватель ELISA: В рабочем состоянии установить считыватель 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 РЕШЕНИЕ 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 - ELISA считыватель

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

Положительный – абсорбция считывания более чем 0.2 единиц ОП.

Отрицательный - абсорбция считывания менее чем 0.2 единиц 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

Специфичность: 14/14 = 100%

Чувствительность: 14/14 = 100%

Литература:

(См. в оригинале инструкции).

Информация для заказа:

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