

НАБОР ИФА
ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К ИНФЕКЦИИ
ENTAMOEBA HISTOLYTICA

8201-35, E. Histolytica (Amebiasis)

Каталог. № : 8201-35
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 06-01-2011



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

Анализ	E. Histolytica Amebiasis ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	"Сэндвич" - ИФА; покрытый антителами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль
Образец	1 г образца стула
Специфичность	100 %
Чувствительность	92 %
Общее время	~ 100 мин.
Срок годности	12 мес.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Для качественного определения IgG антител в сыворотке к *Entamoeba histolytica* с использованием методики твердофазного иммуоферментного анализа (ELISA).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

Амебиоз - болезнь, вызванная протозойным паразитом *Entamoeba histolytica*. Этот организм эндемический во всем мире в развивающихся странах, и может быть обнаружен в иммигрантах и путешественниках из этих территорий. Болезнь обычно проявляется кишечными симптомами. В меньшем количестве случаев, организм становится внекишечным и приводит к формированию абсцесса в различных органах. Из органов которые могут пострадать, печень наиболее распространенное место. Как правило, организм невозможно обнаружить в стуле после того, как болезнь становится внекишечной. Серологические анализы полезны при обнаружении инфекции *E. histolytica* если организм становится внекишечным и при исключении организма из диагностики других расстройств (например хронических болезней печени, язвенного колита, и т.д.). Этот серологический анализ не должен использоваться для обнаружения инфекционных кишечных болезней. Анализ на яйца и паразиты (O&P) или анализ фекального антигена *E. histolytica* - соответствующий анализ для кишечных инфекционных болезней. Так как антитела могут сохраниться в течение лет после клинической терапии, положительный серологический результат не может обязательно указывать на активную инфекцию. Однако, отрицательный серологический результат может быть одинаково важным в исключении подозреваемого проникновения в ткань *E. histolytica*.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Микролуночки для анализа покрыты антигеном *E. Histolytica*. В течение первой инкубации с разбавленными сыворотками пациентов. Любые антитела, взаимодействующие с антигеном связываются с покрытыми луночками. После промывки для удаления остатка образца добавляется ферментный конъюгат. Если антитела закрепятся на луночках, таким образом ферментный конъюгат свяжется с этими антителами. После другой серии промывок 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 иммуоферментного считывателя (ELISA).

РЕАГЕНТЫ	
Позиция	Описание
Полоски для анализа	Микролуночки, содержащие штамм антигенов <i>E. Histolytica</i> NIH-200 - 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 кристаллизироваться 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

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 амебиоза.

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 АНАЛИЗА

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 (1:64) образцов для анализа в остальные лунки.
Замечание: Отрицательный и положительный контроли поставляются разбавленными. Дальше не разбавлять.
3. Инкубировать при комнатной температуре (15 - 25°C) в течении 10 минут.
4. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза 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 по чистоту реакции как +, ++ или +++.

Считыватель ELISA: В рабочем состоянии установить считыватель на ноль. 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 0.3 единицы ОП.

Положительный – 0,5 единиц ОП и выше.

ОБНАРУЖЕНИЕ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ

Проблема: Отрицательный контроль значительно развил цвет.

Исправление: Несоответствующие промывки. Удалите остаток жидкости из лунок постукивая ими на промокательном полотенце. Не позволяйте анализируемым лункам высыхать.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - ELISA считыватель

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

Положительный – абсорбция считывания более чем 0.4 единиц ОП.

Отрицательный - абсорбция считывания менее чем 0.4 единиц ОП. Положительное считывание ОП указывает, что пациент может быть инфицирован *E. histolytica*.

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

Изучение #1 - Канадский референтный центр

Сравнил ELISA ДАИ с другим доступным ELISA. Соответствие составило 96.3 % (к-во = 82).

Изучение #2 – CDC и P

		CDC и P	
		+	-
ДАИ	+	22	0
	-	2	21

Чувствительность: 22/24 = 92%

Специфичность: 21/21 = 100%



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