

НАБОР ИФА ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К ТРИХИНЕЛЛЕЗУ

8207-35, *Trichinella*

Каталог. № : 8207-35
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 02-01-2013



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

Анализ	Trichinella ELISA
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	93.8 %
Чувствительность	94.4 %
Общее время	~ 20 мин.
Срок годности	12 мес.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

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

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

Трихинеллез - инфекция, вызванная нематодой *Trichinella spiralis*, приобретенная глотанием сырого или недоваренного мяса (прежде всего свинины). Хотя нематоду можно обнаружить в большом количестве животных во всем мире, домашняя свинья - основной источник инфекции в развитых государствах.

Серология также была важным инструментом в диагностике трихинеллеза в течение нескольких десятилетий. Использовались различные методологии, такие как ELISA, латексной агглютинации (LA), непрямой гемагглютинации (ИНА) и флоккуляции бентонита (BFT). Хотя были обнаружены различные классы антител, никакой из единичных классов не показал превосходства в диагностической способности над другими.

BFT был методом для серологии, но страдал от неспецифических реакций, некоторым методам недостает чувствительности (измеримые антитела часто не появляются до от 3 до 4 недель после инфицирования) и наблюдаются проблемы в выполнении анализа. Недавно, экскреторно - секреторный (ES) антиген был очищен от личинок инфицированных свиней. Этот антиген имеет высокую степень специфичности для *T. Spiralis* и использовался в нескольких крупномасштабных исследованиях.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Микролуночки для анализа покрыты антигеном *Trichinella*. 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/ТМБ). 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 антигены <i>Trichinella</i> - 96 лунок в рамке для полосок.
Ферментный конъюгат	1 бутылка с 11 мл белка А, конъюгированного с пероксидазой.
Положительный	1 флакон с 1 мл разбавленной положительной сыворотки

контроль	кролика.
Отрицательный контроль	1 флакон с 1 мл разбавленной отрицательной сыворотки человека.
Хромоген	1 бутылка с 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМБ).
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.

ХРАНИЕНИЕ 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 трихинеллеза.

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).

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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. Не разбавить.
3. Инкубировать при комнатной температуре (15 - 25°C) в течение 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 бумажных полотенцах, 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.

Аскарида 100% (6/6)
 Анкилостома 83,3% (5/6)
 Стронгилоиды 83,3% (5/6)
 Токсокара 66,6% (4/6)
 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
www.diameb.com

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 0.3 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 0.3 единиц ОП.

Отрицательный - абсорбция считывания менее чем 0.3 единиц ОП.

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 85.4 % (к-во = 82).

Изучение #2 – CDC и P

		CDC&P	
		+	-
DAI	+	43	1
	-	2	15

Чувствительность (положительная биопсия): 17/18 = 94.4%

Чувствительность (симптоматическая вспышка): 26/27 = 96.3%

Специфичность (значения в норме): 25/16 = 93.8%