

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА *Campylobacter*

## 8320-3, *Campylobacter* (Fecal)

Каталог. № : 8320-3  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 04-16-2009



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

Анализ	<i>Campylobacter</i> Antigen
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	ИФА типа сэндвич; покрытый антителами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль
Образец	1 г образца кала
Специфичность	100%
Чувствительность	77%
Общее время	~ 50 мин.
Срок годности	12 мес.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Этот набор ферментосвязанного микролуночного иммуносорбентного анализа (ИФА) для диагностики *in vitro* предназначен для обнаружения антигенов к видам *Campylobacter* в человеческих фекалиях с использованием пероксидазы в качестве индикатора фермента. Анализ может быть выполнен визуально или с помощью ИФА-ридера. Данный набор ИФА предназначен для использования свежих или замороженных образцов стула.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

(См. оригинал инструкции на англ. языке).

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор ИФА *Campylobacter* является иммунологическим анализом двойного антитела (сэндвич) с использованием специфических антител к *Campylobacter*, нанесенных на лунки. После добавления образца и ферментного конъюгата, положительная реакция (что указывает на присутствие антигена *Campylobacter*) производит насыщенный синий цвет.

Добавление стоп-раствора останавливает анализ и превращает синий цвет на желтый. Результаты могут быть считаны визуально или с помощью ИФА-ридера.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

#### Материалы, поставляемые с набором

- **Стрипы микропланшета:** лунки с антителами к *Campylobacter* – 96 лунок в держателе.
- **Реагент 2:** 1 бут., содержащая 11 мл поликлональных антител к *Campylobacter*, конъюгированных к пероксидазе хрена с консервантом.
- **Положительный контроль:** 1 флакон, содержащий 2 мл антигена *Campylobacter* в буферной основе.
- **Отрицательный контроль:** 1 флакон, содержащий 2 мл буферной основы.
- **Хромоген:** 1 бут., содержащая 11 мл хромогена ТМБ.
- **Промывочный концентрат (20х):** 2 бут., содержащая 25 мл концентрированного буфера и тимеросала.
- **Стоп раствор:** 1 бут., содержащая 11 мл 1М фосфорной кислоты.

### ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

**Исключение:** Промывочный концентрат может выпадать в осадок во время хранения в холодильнике, но растворяется после нагревания.

Не добавлять в образцы или в любые реагенты азиды.

Контроли и некоторые реагенты содержат тимеросал в качестве консерванта.

Обращайтесь со всеми образцами как с потенциально инфекционными материалами.

### 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

Снимите колпачок и добавьте содержимое 1 бутылки промывочного концентрата к 475 мл дистиллированной воды. Перенесите содержимое разбавленного промывочного буфера в гибкую бутылку.

### ОБРАЗЦЫ ДЛЯ АНАЛИЗА

#### Сбор стула (кала)

Стул необходимо собрать в чистые емкости. Образцы должны храниться при 4°C и анализироваться в пределах 24 часов с момента сбора. Образцы, которые не анализируются в пределах этого времени, должны заморозиться до использования при -20°C. Замораживание образцов не воздействует неблагоприятно на анализ. Все разбавления должны быть сделаны с разбавляемым промывочным буфером.

#### Подготовка образца

##### Свежие / замороженные образцы стула

Разморозьте замороженные образцы стула. Приготовьте разбавление стула 1:5 путем добавления 1 грамма (приблизительно размером с горошину) к 4 мл разбавленного промывочного буфера. Хорошо перемешайте и позвольте осесть тяжелым частицам.

Для образцов стула с диареей может использоваться более низкое разбавление (то есть, разбавление 1:2).

Замечание: Не формализуйте образцы перед анализом.

### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

#### Поставляемые материалы

Микролуночный ELISA набор для определения антигена аденовируса в стуле.

#### Требуемые, но не поставляемые материалы

- Пипетки.
- Гибкая бутылка для промывки полосок.
- Дистиллированная вода.
- Мерная колба.

#### Рекомендуемое оборудование

ИФА-ридер для считывания планшетов с фильтром 450 и 620-650 нм.

#### Температурный режим

Все инкубации проводить при комнатной температуре (15 – 25°C).

### ПРОЦЕДУРА

1. Отломить требуемое количество лунок (две для контролей и определенного количества образцов) и положить в рамку для полосок.
2. Используя дозатор добавить 100 мкл отрицательного контроля в лунку #1, 100 мкл положительного контроля в лунку #2\*.
3. Добавить 100 мкл супернатанта стула в соответствующую лунку для анализа.
4. Инкубировать при комнатной температуре (15 – 25°C) в течении 30 минут, затем промыть\*\*.
5. Добавить в каждую лунку по 2 ферментного конъюгата.
6. Инкубировать при комнатной температуре в течении 15 минут, затем промыть\*\*.
7. Добавить в каждую лунку по 2 капли хромогена.
8. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
9. Добавить в каждую лунку по 2 капли стоп раствора. Хорошо перемешать, постукивая по рамке для полосок указательным пальцем.
10. Считать результаты визуально или ИФА-ридером при 450/620-650 нм.

\*Контроли должны быть включены во время каждой процедуры.

\*\*Промывки состоят из заполнения до края каждой лунки, вытряхивая содержимое и обратного заполнения лунок в общем количестве 5 раз.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - визуальная:

**Реактивный:** Любая лунка с образцом, которая имеет явный и существенный желтый цвет.

**Нереактивный:** Любая лунка с образцом, которая не имеет явного желтого цвета.

**ЗАМЕЧАНИЕ:** Отрицательный контроль, также как и некоторые образцы, может показывать некоторый слабый цвет. Лунка образца должна быть явно темнее, чем отрицательного контроля, чтобы результат назвать положительным.

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – считывание ОП:**

В рабочем режиме установите на нуль планшетный ИФА-считыватель. Считайте все лунки, используя бихроматическое считывание с фильтрами при 450 и 620-650 нм.

**Положительный:** мера поглощения света считывания 0,15 и выше.  
**Отрицательный:** мера поглощения света считывания меньше чем 0,15.

**РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Исследование №1. Было проверено 28 образцов стула в сравнении с культурой. Получены следующие результаты.

	Культура +	Культура -
ИФА ДАИ +	10	0
ИФА ДАИ -	3	15

**Чувствительность:** 77% (10/13)

**Специфичность:** 100% (15/15)

**АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**

Анализ способен определить приблизительно от  $10^4$  до  $10^5$  КФО (CFU).

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Использование положительного и отрицательного контролей позволяет легко проверять стабильность набора. Для действительного анализа положительный контроль должен быть более чем 0,5 единиц ОП, и отрицательный контроль должен быть ниже 0,15 единиц ОП. Если значения вне этих диапазонов, набор не должен использоваться.

**ОБНАРУЖЕНИЕ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ**

**Проблема:** Отрицательный контроль значительно развил цвет.

**Исправление:** Недостаточность промывки. Повторить анализ с более тщательными промывками.



**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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)