

Убедитесь в том, что промывочный буфер находится в лунках не менее 5 секунд за один цикл, и что оставшаяся жидкость полностью удалена при каждом цикле промывки.

Избегайте попадания света на раствор субстрата ТМВ!

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- Разведите образцы буфером для образцов (3) в соотношении 1+10, например, 100 мг или 100 мкл образца кала + 1.0 мл буфера для разведения образцов (3)
- Избегайте даже незначительного сдвига времени при внесении реагентов и образцов.

Выполнение процедуры

1. Перед началом тестирования все компоненты набора должны достичь комнатной температуры. Аккуратно перемешайте, без образования пены.
2. Внесите по:
75 мкл положительного контроля «CONTROL +» (4)
75 мкл отрицательного контроля «CONTROL -» (5)
100 мкл разведенных образцов кала
3. Закройте планшет и инкубируйте **30 мин при 22-25 °С**.
4. Удалите жидкость декантированием, затем промойте каждую лунку **5 раз**, используя по **300 мкл** буфера для промывок (разведенного (2)) на лунку на один цикл промывки.
5. Внесите **2 капли (или 75 мкл) «CONJ HRP» (6)** в каждую лунку.
6. Закройте планшет и инкубируйте **30 мин** при 22- 25 °С.
7. Удалите жидкость декантированием, затем промойте каждую лунку **5 раз**, используя по **300 мкл** буфера для промывок (разведенного (2)) на лунку на один цикл промывки.
8. Внесите **2 капли (или 75 мкл) «SUBSTR TMB» (7)** в каждую лунку
9. Закройте планшет и инкубируйте **10 мин** при 22-25 °С защищая от света.
10. Внесите **2 капли (или 75 мкл) «STOP» (8)** в каждую лунку, аккуратно перемешайте.
11. Считайте ОП при длине волны **450 нм** (длина волны сравнения ≥ 620 или 690 нм) с помощью микропланшетного ридера в течение 30 минут после остановки реакции.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Качественная оценка

Определение уровня «cut-off»:

ОП отрицательного контроля + 0.20

Образцы, для которых ОП равна или выше значения «cut-off» должны быть признаны положительными, а образцы, для которых ОП ниже значения «cut-off» должны быть признаны отрицательными на содержание *Giardia lamblia*.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Serazym® Giardia lamblia

Отрицательные	< Cut-off
Положительные	\geq Cut-off

Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные референсные диапазоны нормальных и патологических значений, как это обычно делается для других диагностических параметров. Указанные выше референсные значения приводятся только как ориентировочные, которые можно ожидать.

Валидность теста

Данный тест считается действительным только в случае, если:

- Средняя ОП отрицательного контроля ≤ 0.20
- Средняя ОП положительного контроля ≥ 0.80

Если эти критерии не выполнены, результаты должны быть признаны недействительными, и тестирование должно быть повторено. Убедитесь, что процедура анализа выполняется корректно (соответствующие периоды инкубации и температуры, разведения образцов и буфера для промывок, этапы промывок и т.д.). В случае повторного невыполнения критериев достоверности обращайтесь к своему поставщику.

Ограничения метода

Нет корреляции между измеряемой ОП и тяжестью инфекции. Не допустимо проводить сравнение ОП, получаемых для образцов и для положительного контроля.

Перекрестная контаминация образцов и реагентов может приводить к ложноположительным результатам. Некорректные разведения, недостаточно гомогенизированные образцы или твердые частицы в образцах, оставшиеся после центрифугирования, могут давать ложноотрицательные результаты. Ферментированные образцы со значением pH ниже 5 после ресуспендирования могут

давать ложноотрицательные результаты. Образцы, обработанные формалином, могут давать ложноположительные результаты.

Отрицательные результаты данного анализа не исключают инфекции.

При интерпретации любых результатов исследований методом ИФА (ELISA) необходимо учитывать результаты микробиологических исследований и полную клиническую картину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Воспроизводимость

Коэффициент вариации внутри серии (CV) при тестировании данным методом Serazym® *Giardia lamblia* рассчитан из анализа 12 повторов образцов:

Образец	Средняя ОП	Стандартное отклонение	CV (%)
1	1.438	0.099	6.86
2	1.007	0.065	6.41
3	0.673	0.043	6.36
4	0.243	0.012	5.04

Коэффициент вариации между сериями (CV) при тестировании данным методом Serazym® *Giardia lamblia* рассчитан из анализа в 11 различных постановках по 3 повтора каждого образца:

Образец	Средняя ОП	Стандартное отклонение	CV (%)
1	1.488	0.071	4.77
2	1.034	0.048	4.64
3	0.656	0.051	7.77
4	0.246	0.027	10.9

Нижний предел обнаружения

Нижний предел обнаружения антигена *Giardia lamblia* в Serazym® *Giardia lamblia* определяется путем титрования проб фекалий, в которые были введены цисты *Giardia lamblia* и трофозоиты культур. Нижний предел обнаружения составил:

- 5.0X10³ кисты и
- 2.5X10⁴ трофозоиты на мл суспензии кала.

Специфичность и чувствительность

Было протестировано 409 образцов кала параллельно данным методом Serazym® *Giardia lamblia* и FIT:

	FIT положительные	FIT отрицательные
Serazym® ELISA положительные	39	2
Serazym® ELISA отрицательные	1	367

Специфичность: 99.5 % Чувствительность: 97.5 %

Перекрестная реактивность

Образцы фекалий, положительные к одному из следующих кишечных паразитов, и, соответственно, другим патогенным микроорганизмам, не показали каких-либо перекрестных реакций в Serazym® *Giardia lamblia*:

Adenovirus, Ancylostoma duodenale, Ascaris lumbricoides, Blastocystis hominis, Cryptosporidium parvum, Entamoeba dispar, Entamoeba histolytica, Rotavirus

Негативные образцы кала насыщались $\geq 10^8$ КОЕ микроорганизмами (см. табл. ниже) и протестированы с отрицательным результатом данным набором (<Cut-off).

<i>Aeromonas hydrophila</i>	(ATCC 7966)
<i>Bacillus cereus</i>	(ATCC 11778)
<i>Bacillus subtilis</i>	(ATCC 6633)
<i>Bacteroides fragilis</i>	(ATCC 25285)
<i>Candida albicans</i>	(ATCC 10231)
<i>Campylobacter coli</i>	(ATCC 33559)
<i>Campylobacter jejuni</i>	(ATCC 33291)
<i>Citrobacter freundii</i>	(ATCC 8090)
<i>Clostridium sordellii</i>	(ATCC 9714)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	(ATCC 13048)
<i>Enterobacter cloacae</i>	(ATCC 13047)
<i>Enterococcus faecalis</i>	(ATCC 29212)
<i>Escherichia coli</i>	(ATCC 25922)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(ATCC 13883)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	(ATCC 27337)
<i>Proteus vulgaris</i>	(ATCC 8427)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(ATCC 10145)
<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>enteritidis</i>	(ATCC 13076)
<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>typhimurium</i>	(ATCC 14028)
<i>Shigella flexneri</i>	(ATCC 12022)
<i>Shigella sonnei</i>	(ATCC 25931)
<i>Staphylococcus aureus</i>	(ATCC 25923)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(ATCC 12228)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	(ATCC 17802)



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

СХЕМА ИНКУБАЦИИ – (См. Оригинал инструкции)

РЕКОМЕНДАЦИИ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Данный набор предназначен только для использования *in vitro*. Точно соблюдайте инструкции. Тестирование данным методом должно проводиться только квалифицированным персоналом.

Соблюдайте сроки годности, указанные на этикетках реагентов. Обращайте внимание и соблюдайте сроки стабильности разведенных реагентов.

Не используйте и не смешивайте реагенты различных лотов, за исключением буфера для образцов, буфера для промывок, раствора субстрата ТМВ и стоп-раствора.

Не используйте реагенты других производителей.

Не допускайте сдвига времени во время пипетирования реагентов.

Все реагенты должны храниться при 2... 8 °С перед использованием.

Некоторые реагенты содержат незначительные количества тимерозала (< 0.1 % w/v) и катона (1.0 % v/v) в качестве консервантов. Не допускайте их проглатывания или контакта с кожей или слизистыми оболочками.

Обращайтесь со всеми компонентами и образцами как с потенциально опасными.

Так как набор содержит потенциально опасные материалы, необходимо соблюдать следующие меры предосторожности:

- Не курите, не ешьте или не пейте при работе с материалами набора,
- Всегда используйте защитные перчатки,
- Никогда не пипетируйте материалы ртом,
- Обращайте внимание на меры предосторожности при работе с каждым отдельным компонентом набора.