



Набор для определения CHLAMYDIA TRACHOMATIS CHLAMYDIA TRACHOMATIS IgG ELISA

Кат. № : 139-3462
Количество : 96
Производитель : DRG (США)

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

Методика от 08-08-2006

Иммуноферментный анализ для качественного и полуколичественного определения антител класса IgG к антигенам *Chlamydia trachomatis* в сыворотке человека.

Принцип анализа

Набор CHLAMYDIA TRACHOMATIS IgG ELISA это набор для детекции антител класса IgG к вирусу *Chlamydia trachomatis* в сыворотке человека.

Микротитровальные стрипованные лунки в качестве твердой фазы покрыты антигенами к вирусу *Chlamydia trachomatis*. Разведенные образцы пациента и готовые к использованию контроли пипетируются в лунки. Во время инкубации специфичные к вирусу *Chlamydia trachomatis* антитела положительных образцов и контролей связываются с иммобилизованными антигенами.

После промывки (для удаления несвязанных образцов и контролей) в лунки добавляется конъюгат антител IgG человека с меткой пероксидазы хрена. Во время второй инкубации этот конъюгат связывается специфически с антителами IgG, в результате чего формируются иммунные комплексы с ферментативными связями

После второй промывки (для удаления несвязанного конъюгата) сформированные иммунные комплексы (в случае положительного результата) определяются в ходе инкубации с субстратом ТМБ, в результате чего появляется голубое окрашивание. Голубое окрашивание меняется на желтое при добавлении серной кислоты для остановки индикаторной реакции.

Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна количеству в образце антител специфичных к вирусу *Chlamydia trachomatis*. Абсорбция считывается при 450 нм на микропланшетном ELISA - ридере. Общее время инкубации: **1 час, 45 минут**

Реагенты и содержимое

- | | |
|-----|--|
| 12 | микротитровальные лунки с <i>Chlamydia trachomatis</i> (IgG) 8 делимых стрипов покрытых антигенами <i>Chlamydia trachomatis</i> ;
вкл. 1 держатель для стрипов, 2 пленки для накрывания |
| 100 | мл IgG/A раствор для разведения образцов***
готов к использ., желтого цвета; pH 7.2 ± 0.2 |
| 14 | мл Стоп раствор
готовая к использ., 0.5 Моль/л |

Предупреждение:

Серная к-та раздражает глаза и кожу. Хранить в недоступном для детей месте. При контакте с глазами промыть водой и проконсультироваться с врачом!

- | | |
|------|---|
| 30 | мл Промывочный раствор*
концентрация 20x; 600 ml; pH 7.2 ± 0.2 |
| 20мл | конъюгат <i>Chlamydia trachomatis anti-IgG**</i>
готов к использ., красн. цв., бесцв. колп;
кроличьи anti-human IgG, меченые пероксидазой |
| 14 | мл ТМБ раствор
готов к использ., 3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidine |
| 2 | мл <i>Chlamydia trachomatis</i> IgG «+» контроль***
готов к использ., красный колпачок |

- | | |
|---|---|
| 2 | мл <i>Chlamydia trachomatis</i> IgG «-» контроль***
готов к использ., желтый колпачок |
| 2 | мл <i>Chlamydia trachomatis</i> IgG «Cut-off» контроль***
готов к использ., желтый колпачок |

- * ⇒ содержит 0.01 % тимеросал
- ** ⇒ содержит 0.01 % тимеросал + 0.01 % гентамицин сульфат
- *** ⇒ содержит 0.1 % катон + 0.1 % азд натрия

Предупреждение

Тимеросал токсичен! Не глотать. Избегать контакта с кожей и слизистыми оболочками!

Все компоненты человеческого происхождения используемые для производства этих реагентов были протестированы на антитела к HIV и HBsAg на методах 3rd-поколения и показали отрицательный результат.

Положительный контроль *Chlamydia trachomatis* IgG не инфицирован в клеточных культурах.

Тем не менее со всеми материалами необходимо обращаться как с потенциально инфицированными.

Стабильность и хранение

Реагенты стабильны до даты срока годности, указанной на этикетке при хранении при 2 - 8 °С.

Не использовать реагенты после окончания срока годности!

Подготовка реагентов

Рабочий промывочный раствор

Развести промывочный раствор 1+19 (напр. 10 мл + 190 мл) свежей, очищенной от бактерий редистилированной водой.
потребление: ~5 мл на определение

кристаллы в растворе исчезают при нагревании до 37 °С на водяной бане. стабильность после разведения: 4 недели при 2 ± 8 °С

Микротитровальные стрипы

Стрипы имеют вакуумную упаковку. Сразу после открытия упаковки и удаления стрипов оставшиеся стрипы необходимо запаковать герметично в пластиковую упаковку с влагопоглотителем, поставляемым в наборе и хранить при 2 ± 8 °С.

ВАЖНО!

- Данный набор предназначен только для диагностики «ин-витро».
- Не использовать вместе реагенты или стрипы из разных лотов.
- Не использовать вместе реагенты разных производителей.
- Не использовать реагенты после окончания срока годности, указанного на этикетке.
- Использовать только чистые наконечники для пипеток, пипетки и лабораторный инвентарь.
- Не путать колпачки реагентов во избежание кросс-контаминации.
- Плотно закрывать флаконы с реагентами сразу после использования для избежания испарения и загрязнения микробами.
- После первого открывания и последующего хранения проверять флаконы конъюгата и контролей на микробную контаминацию перед дальнейшим использованием.
- Во избежание кросс-контаминации и ложно завышенных результатов пипетировать образцы пациентов и раскапывать конъюгат без распыливания прямо на дно лунок.
- Во время инкубации накрывать микротитровальные стрипы пленкой для предотвращения испарения.

Приготовление проб

Развести каждый образец пациента 1+100 раствором для разведения образцов, напр., 10 мкл образца + 1 мл раствора для разведения (хорошо смешать).

Примечание: Положительный и отрицательный контроли готовы к использованию и их не надо разводить!

Подготовка к анализу

Внимательно прочитайте инструкцию перед выполнением анализа. Надежность результатов зависит от четкого следования инструкциям.

Очень важно довести все компоненты до комнатной температуры перед началом анализа!

Перед проведением анализа необходимо составить схему распределения и идентификации образцов и контролей с помощью формы вложенной в набор.

Отобрать требуемое количество микротитровальных стрипов или лунок и поместить их в держатель.

Разместите по меньшей мере:

- 1 лунка (напр., А1) для бланка субстрата,
 1 лунка (напр., В1) для отрицательного контроля
 2 лунок (напр. С1+D1) для "Cut-off" контроля и
 1 лунка (напр., Е1) для положительного контроля.

На усмотрение пользователя можно ставить образцы и контроли в дублях.

Процедура анализа

Этап 1

- а) раскапать
 100 мкл **готового к употр.** отрицательного контроля в лунку В1
 100 мкл **готового к употр. "Cut-off"** контроля в лунки С1+D1
 100 мкл **готового в упор.** положительного контроля в лунку Е1 и
 100 мкл **каждого разведенного** образца пациента в оставшиеся лунки согласно схеме.
Оставить лунку А1 для бланка субстрата!
Накрыть лунки пленкой поставляемой в наборе.
Оставьте лунку А1 для бланка субстрата.

- б) Инкубировать
1 час при 37 °С.
 Во время инкубации подготовить требуемое кол-во промывочного раствора достаточное для количества используемых лунок. (см. «Подготовка реагентов»).
- в) Удалить содержимое лунок и промыть их **3 раза** 300 мкл рабочего промывочного раствора.

Примечание:

Промывка очень важна! Плохая промывка может привести к низкой точности и завышенным значениям абсорбции.

В конце осторожно удалить остатки жидкости выстучав стрипы на салфетку перед следующим этапом!

Этап 2

- Раскапать
 а) 100 мкл **готового к употр.** конъюгата антител IgG к Chlamydia trachomatis **во все лунки кроме А1 и накрыть их пленкой.**
- б) Инкубировать
30 минут при комнатной температуре (20 - 25 °С).
 Не подвергать воздействию прямого солнечного света!
- в) **Повторить процедуру промывки** как описано в этапе 1).
 Примечание: **осторожно удалить остатки жидкости выстучав стрипы на салфетку перед следующим этапом!**

Step 3

- а) Раскапать
 по 100 мкл **готового к употр.** раствора ТМБ **во все** лунки и **опять их накрыть.**
- б) Инкубировать
ровно 15 минут при комнатной температуре (20 ÷ 25 °С) в темноте.
- в) **Раскапать**
 по 100 мкл **"Cut-off"** раствора (как и ТМБ) **во все** лунки.
 Любое голубое окрашивание проявившееся во время инкубации переходит в желтое.
- Примечание:** высоко-положительные образцы пациентов могут иметь темный осадок хромогена!

Измерение

Настроить микропланшетный ридер для ELISA на нуль используя бланк субстрата в лунке А1.

Если по техническим причинам ELISA ридер не может быть настроен на нуль используя бланк субстрат в лунке А1, вычитайте значение абсорбции лунки А1 из всех остальных значений абсорбции.

Измерить абсорбцию во всех лунках при 450 нм и записать значения абсорбции для каждого контроля и образца пациента в схему.

Двойная длина волны – рекомендуется считывать на 620 нм как референтной длине волны. Где применимо рассчитать среднее значение абсорбции всех дублей.

Оценка результатов

Постановка анализа может считаться **действительной** при соблюдении следующих условий:

- **Бланк субстрата в А1:** ⇒ значение абсорбции **менее 0.100.**
- **Отриц. контроль в В1:**
⇒ значение абсорбции **менее 0.300.**
- **"Cut-off" в С1/D1:**
⇒ значение абсорбции **0.350-0.550.**
- **Положит. контроль в Е1** должны иметь абсорбцию равную или более значения **"Cut-off"**.

Результаты

Среднее значение абсорбции "Cut-off" [CO]

Рассчитать среднее значение абсорбции 2 определений **"Cut-off"** контролей (напр., в С1/D1).

Пример: $(0.44 + 0.46) \div 2 = 0.45 = CO$

Средние значения абсорбции образцов пациента
 более чем на **10 % больше CO**
 ⇒ **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗ-Т**

(Средние) значения абсорбции пациентов
 от **10 % выше до 10 % ниже CO**
 ⇒ **серая зона** ⇒ повторить анализ

2 - 4 недели спустя – на новых пробах пациентов

результат второго анализа **опять**

в «серой зоне»
 ⇒ **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗ-Т**

средние значения абсорбции пациента
 более чем на **10 % ниже CO**
 ⇒ **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗ-Т**

Результаты в единицах NOVUM [NU]

Значение абсорбции пациента (средн.)

$$\frac{CO}{0.45} = [DRG \text{ ЕД.} = NU]$$

Пример: $\frac{1.580 \times 10}{0.45} = 35 \text{ NU (DRG ЕД.)}$

Интерпретация результатов

Значение Cut-off:	10	NU
Серая зона:	9 - 11	NU
Отрицательный:	< 9	NU
Положительный:	> 11	NU

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com