



Перед использованием приведите набор к комнатной температуре (15-25°C).

## Набор ИФА для качественного определения антигена *Legionella pneumophila* в моче человека

Каталог. № :8305-3  
Количество :96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 24-06-2008

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

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Данный анализ для определения антигена *Legionella pneumophila* в моче предназначен как дополнение к культивированию для предполагаемой диагностики прошлой или текущей «болезни легионеров» путем качественного определения антигена *Legionella pneumophila* в человеческой моче. Этот набор – диагностический иммунологический анализ *in vitro* (компания DAI), использующий пероксидазу как индикаторный фермент.

### ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ – твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) двойного антитела (сэндвича), использующий антитело анти-*Legionella pneumophila*, чтобы захватить антиген из мочи. Затем добавляется второе антитело, конъюгированное с пероксидазой (HRP), которое связывается с комплексом. Эта реакция визуализируется после добавления хромогена тетраметилбензидина (TMB). Последующее развитие синего цвета указывает на наличие антигенов *Legionella pneumophila*, являющихся связанными антителами анти-*Legionella pneumophila*.

Позиция	РЕАГЕНТЫ	
	Описание	
Полоски для анализа	Микролунки, содержащие очищенные кроличьи IgG антитела анти- <i>Legionella pneumophila</i> .	
Ферментный конъюгат	1 бутылка с 11 мл очищенного кроличьего IgG антитела анти- <i>Legionella pneumophila</i> , конъюгированного с HRP с красным красителем и тимеросалом.	
Положительный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленного антигена <i>Legionella pneumophila</i> . в буфере с тимеросалом.	
Отрицательный контроль	1 флакон с 2 мл разбавленного буфера с тимеросалом.	
Хромоген	1 бутылка с 11 мл тетраметилбензидина (TMB) и перекиси.	
Промывочный концентрат (20x)	2 бутылки с 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества.	
Стоп раствор	1 бутылка с 11 мл 1М фосфорной кислоты.	

### ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностического использования *in vitro*.

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. Соблюдайте осторожность во избежание аэрозолей и обеззараживайте любые брызги образцов.

Стоп раствор - 5 % раствор фосфорной кислоты в воде. При попадании на кожу промойте большим количеством воды. При попадании кислоты в глаза, промойте большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью.

Люди со световой слепотой или ухудшенным зрением могут не считать анализ визуально и должны и для интерпретации результатов должны использовать спектрофотометрические считывания.

Не используйте набор по истечении его срока годности.

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, полоски и компоненты в бутылках: Хранить при 2-8°C. Разбавленный промывочный буфер может храниться при комнатной температуре в течении 1 недели с момента приготовления.

### СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Образцы мочи должны быть собраны в стандартные стерильные емкости, хранятся при комнатной температуре или в охлажденном виде (2-8°C) и анализироваться в пределах 24 часов с момента сбора. Альтернативно, образцы могут храниться перед анализом при 2-8°C до 14 дней или замораживаться (-70°C) при более длительном хранении.

**Всякий раз, когда возможно, образцы мочи должны транспортироваться при 2-8°C или замораживаться**

Образцы мочи, содержащие избыточные ураты, фосфаты, или другие растворенные соли могут образовать кристаллы соли во время хранения при 8°C или ниже. Обеспечьте, чтобы все образцы были комнатной температуры перед выполнением анализа.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

#### Требуемые, но не поставляемые материалы

- Гибкая бутылка для промывки полосок (рекомендуется с узким наконечником) или промыватель микропланшета.
- Дистиллированная или деионизированная вода и мерная колба.
- Пипетки.
- Промокательное бумажное полотенце.

### Рекомендуемое оборудование

ELISA спектрофотометр для дихроматических считываний при 450/620-650 нм.

### Соответствующая температура

Все инкубации проводятся при комнатной температуре (15-25°C).

### ПРОЦЕДУРА

- Разбавьте бутылку 20x промывочного раствора дистиллированной водой до 500 мл. **ХОРОШО ПЕРЕМЕШАЙТЕ.**
- Отломите требуемое количество лунок (две для контролей и определенного количества образцов) и положить в рамку для полосок. Возвратите все неиспользованные полоски в мешочек и герметично закройте замком.
- Добавить 100 мкл отрицательного контроля в лунку #1, 100 мкл положительного контроля в лунку #2.
- Добавить по 100 мкл образцов мочи в каждую лунку для анализа.
- Инкубировать при комнатной температуре (15-25°C) в течении 30 минут, затем промыть\*.
- Добавить в каждую лунку по 2 капли конъюгата.
- Инкубировать в течении 10 минут, затем промыть.
- Добавить в каждую лунку по 2 капли хромогена. Инкубировать 5 минут. После этого этапа **НЕ ПРОМЫВАТЬ.**
- Добавить в каждую лунку по 2 капли стоп раствора. Хорошо перемешать, постукивая по краям рамки для полосок.
- Визуально считать результаты или дихроматически при 450/620-650 нм. В рабочем состоянии установить считыватель на ноль.

\* Промывки состоят из тщательного заполнения каждой лунки до переливания и удаления содержимого 3 раза отдельно. Контроли должны быть включены во время каждой процедуры.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – визуальная (ручная)

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

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

**ЗАМЕЧАНИЕ:** Отрицательный контроль, также как и некоторые образцы, может демонстрировать некоторый слабый цвет. Лунка образца должна быть явно темнее чем лунка отрицательного контроля, чтобы назвать результат положительным. Для сравнения цветов смотрите на прилагающуюся карточку визуального считывания.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – считыватель ELISA

В рабочем режиме установите считыватель на ноль. Считайте все лунки, используя дихроматическое считывание с фильтрами в 450 и 620-650 нм.

**Реактивный:** мера поглощения света считывания 0.15 и выше указывает на содержание образцом антигена *Legionella*.

**Нереактивный:** мера поглощения света считывания меньше чем 0.15 указывает, что образец не содержит обнаруживаемых уровней антигена *Legionella*.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Результаты анализа должны использоваться как вспомогательное средство в диагностике и не должны интерпретироваться как сам диагноз.

Этот набор для анализа предназначен для использования только с образцами человеческой мочи. Он не должен использоваться в целях не связанных с человеком.

Отрицательный результат может случиться при уровне антигенов ниже чем пределы обнаружения этого анализа. Через какое-то время многие образцы пациентов могут оказаться подозреваемыми на положительный результат к *Legionella*.

Выделение антигена *Legionella* в моче может изменяться в зависимости от отдельно взятого пациента и стадии болезни. Некоторым людям потребовалось выделять антиген в течение длительного периода времени, так что положительная реакция ELISA может отражать недавнюю но не активную инфекцию. Раннее лечение соответствующими антибиотиками может также уменьшить выделение антигена в некоторых людей. Выделение антигена может начинаться уже через 3 дня после начала признаков и сохраняться в последствии до года.

#### СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

	Набор ДАИ		
		+	-
Референтный метод	+	37	0
	-	2	234

**Чувствительность:** 37/39 = 88%

**Специфичность:** 234/234 = 100%

#### ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Обычные здоровые люди не должны иметь *Legionella* и должны показывать отрицательные результаты. то есть. Значение ОП менее чем 0,15 считывания абсорбции. Положительная реакция при 0,15 единицах ОП и выше указывает, что пациент сбрасывает обнаруживаемые количества антигена *Legionella*.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование положительного и отрицательного контролей позволяет легко проверять стабильность набора. Для действительного анализа положительный контроль должен иметь абсорбцию по крайней мере 0.5 единицы ОП и отрицательный контроль должен быть ниже 0.15 единицы ОП. Если значения вне этих диапазонов, набор не должен использоваться.

#### ОБНАРУЖЕНИЕ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ

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

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

#### Литература:

(См. в оригинале инструкции).

#### Информация для заказа:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
а/я 742  
Тел.: (0342) 775122  
Тел/факс: (0342) 775 612  
E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)