

НАБІР РЕАГЕНТІВ

ENTAMOEBA HISTOLYTICA IgG ELISA

Entamoeba histolytica IgG ELISA

Кат. №: EIA-3474

Дата випуску інструкції: 2018/08
Версія 3.0



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу і перекладу інструкції повинні збігатися.

1 ПРИЗНАЧЕННЯ

Тест ELISA *E. histolytica* - це якісний імуоферментний аналіз для виявлення антитіл до *E. histolytica* у зразках сироватки або плазми людини. Цей тест призначений лише для кваліфікованих медичних технологів.

2 КОРОТКИЙ ОПИС

Амебіаз – це хвороба, спричинена найпростішим паразитом *Entamoeba histolytica* (Амеба дизентерійна). Цей організм ендемічний у всьому світі в країнах, що розвиваються, і його можна зустріти у іммігрантів та мандрівників з цих країн. Захворювання зазвичай проявляється з кишковими симптомами. У меншості випадків організм стане позакишковим і призведе до утворення абсцесів у різних органах. Серед органів, які можуть бути уражені - найпоширенішим є печінка. Як правило, організм більше не може знаходитися в калі, коли хвороба переходить в кишечник. Серологічні тести корисні для виявлення інфекції *E. histolytica*, якщо організм переходить в кишечник, а також для виключення організму з діагностики інших порушень (наприклад, хронічних захворювань печінки, виразкового коліту тощо). Цей серологічний тест не слід використовувати для виявлення кишкових інфекцій. Належним аналізом на кишкові інфекції є тест на яйцеклітини та паразити (O&P) або аналіз фекального антигену *E. histolytica*.

Оскільки антитіла можуть зберігатися роками після клінічного лікування, позитивний серологічний результат не обов'язково може свідчити про активну інфекцію. Негативний результат, однак, може бути дуже важливим для виключення підозр на ураження тканин амебою *E. histolytica*.

3 ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Мікротитрові лунки покриті антигеном *E. histolytica*. Під час першої інкубації з розведеними сироватками пацієнтів будь-які антитіла, які вступають в реакцію з антигеном, будуть зв'язуватися з покритими лунками. Після промивання, щоб видалити залишок зразка, додають Ферментний Кон'югат. Якщо антитіла були зв'язані з лунками, Ферментний Кон'югат зв'язується з цими антитілами. Після чергової серії промивань додають хромоген (тетраметилбензидин або ТМБ). Якщо присутній Ферментний Кон'югат, пероксидаза буде каталізувати реакцію, яка споживає перексид і перетворює хромоген з прозорого на синій. Додавання стоп-розчину зупиняє реакцію і перетворює синій колір у яскраво-жовтий. Потім реакцію можна прочитати візуально або за допомогою зчитувача ELISA.

4 РЕАГЕНТИ

Елементи	Опис	Символ
Тест-смужки	Мікролунки, що містять антигени штаму <i>E. histolytica</i> - 96 тест-лунок у тримачі тест-смужок.	MT PLATE
Ферментний Кон'югат	Один (1) флакон, що містить 11 мл білка-А, кон'югованого з пероксидазою.	CONJ
Позитивний контроль	Один (1) флакон, що містить 1 мл розведеної позитивної кролячої сироватки.	CONTROL +
Негативний контроль	Один (1) флакон, що містить 1 мл розведеної негативної сироватки людини.	CONTROL -
Хромоген ТМБ	Один (1) флакон, що містить 11 мл хромогену тетраметилбензидину (ТМБ).	SUBS TMB
Промивний концентрат (20X)	Один (1) флакон, що містить 25 мл концентрованого буфера та ПАР.	WASH BUF
Буфер для розведення	Два (2) флакони, що містять 30 мл забуференого розчину білка.	SPECM DIL
Стоп-розчин	Один (1) флакон, що містить 11 мл 0,73 М фосфорної кислоти.	SOLN

5 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Не відступайте від зазначених процедур під час проведення цього аналізу. Всі розведення зразків, час інкубації/температури та промивання оптимізовані для найкращих експлуатаційних характеристик. Відхилення від зазначених процедур можуть впливати на чутливість та специфічність аналізу.
- Тільки для діагностики in vitro.
- Не міняти реагенти між наборами з різними номерами партій.
- Не використовувати реагенти після закінчення терміну придатності. Термін придатності вказано на етикетці реагентів. Використання реагентів після закінчення терміну придатності можуть вплинути на результати.
- Невикористані мікролунки слід зберігати у мішечку з осушувачем, щоб захистити їх від вологи.
- Не використовувати розчини, якщо вони мають осад або помутніли. **Вияток:** концентрат для промивання може випадати в осад під час зберігання в холодильнику, але осад розчиняється при нагріванні.
- Не додавати азиди до зразків або до реагентів.
- Контролі та деякі реагенти містять Тимерозал як консервант, який може подразнювати шкіру, очі та слизові оболонки. У разі контакту промити очі або промити шкіру великою кількістю води.
- Не використовувати сироватку, яка, можливо, підтримувала ріст мікробів або помутніла через високий вміст ліпідів. Зразки з високим вмістом ліпідів слід очистити перед використанням.
- Розглядати всі реагенти та зразки як потенційно інфекційні матеріали. Позитивний контроль був протестований необхідними методами тестування і визнаний негативним до поверхневого антигену гепатиту В та антитіла до ВІЛ. Будьте обережні, щоб запобігти розбризкуванню аерозолів та знезаразити будь-які розлиті зразки.
- Стоп-розчин - це 5% розчин фосфорної кислоти у воді. Якщо пролили на шкіру, слід промити великою кількістю води. Якщо кислота потрапила в очі, промити великою кількістю води та звернутися до лікаря.

6 ЗБЕРІГАННЯ

- Реагенти, смужки і компоненти, що містяться у флаконах слід зберігати при температурі 2 - 8° С.
- Гнучкий флакон, який містить розведений промивний буфер, можна зберігати при кімнатній температурі (15°С - 25°С).

7 ПІДГОТОВКА

- Перед використанням, довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури (15°С - 25°С) та перемішати.
- (20X) Промивний концентрат може випадати в осад під час зберігання в холодильнику, але повертається в розчин, коли його довести до кімнатної температури та перемішати. **Перед розведенням до робочої концентрації переконайтесь, що (20X) промивний концентрат повністю знаходиться в розчині.** Для розведення (20X) концентрату для промивання до робочого розведення зніміть кришку та додайте вміст одного флакону концентрату для промивання у гнучкий флакон, що містить 475 мл дистильованої води. Перемішати. Гнучкий флакон повинен мати вузький наконечник для оптимізації миття.

8 ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА

Сироватку або плазму (зібрану з гепарином, ЕДТА або цитратом) слід зберігати при температурі від 2 ° С до 8 ° С, якщо її потрібно проаналізувати протягом 5 днів.

Зразки можна тривалий час за умов зберігання при температурі -20 °С або нижче протягом 1 року.

Не рекомендується заморожувати зразки цільної крові.

Не нагрівати інактивовані зразки та уникати повторного заморожування та розморожування зразків.

9 ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

9.1 Матеріали, які постачаються:

Набір *E. histolytica* IgG ELISA.

9.2 Необхідні матеріали, які не постачаються

- Мікропіпетки
- Гнучкий флакон для промивання смужок (рекомендується з вузьким наконечником)
- Очищена (дистильована) вода
- Пробірки для розведення зразків
- Абсорбуючий папір
- Таймер

9.3 Рекомендовані матеріали

Зчитувач планшетів ELISA з фільтром 450 нм та фільтром від 650 до 620 нм (необов'язково, якщо результати читаються візуально).

9.4 Відповідна температура

Всі інкубації мають кімнатну температуру (15°C - 25°C).

9.5 Процедура тесту

Примітки:

- Переконайтесь, що всі зразки та реагенти мають кімнатну температуру (15 °C - 25 °C).
- При проведенні аналізу намагайтеся уникати утворення бульбашок у лунках. Бульбашки можуть впливати на загальну продуктивність та зчитування кінцевих результатів. Потрібно стушувати лунки на чистий абсорбуючий рушник після кожного етапу і це повинно мінімізувати бульбашки в лунках.
- Негативні та позитивні контролю постачаються у розведеному вигляді. НЕ РОЗВОДИТИ знову.
 1. Відламайте необхідну кількість лунок (дві для контролів + кількість зразків) і помістіть у тримач для смужок.
 2. Розведіть сироватки для пацієнтів 1:64 у буфері для розведення (наприклад, 5 мкл сироваток та 315 мкл буферу для розведення).
 3. Додати **100 мкл** негативного контролю у лунку 1, **100 мкл** позитивного контролю у лунку 2 та **100 мкл** розведених тест-зразків у решту лунок.
 4. Інкубувати при кімнатній температурі протягом **10 хвилин**, потім промити*. Після останнього етапу промивання, витрусити лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки промивного буферу.
 5. Додати **2 краплі (100 мкл)** Ферментного Кон'югату у кожен лунку.
 6. Інкубувати при кімнатній температурі протягом 5 хвилин, потім промити*. Після останнього етапу промивання, витрусити лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки промивного буферу.
 7. Додати **2 краплі (100 мкл)** Хромогену у кожен лунку.
 8. Інкубувати при кімнатній температурі протягом **5 хвилин**.
 9. Додати **2 краплі (100 мкл)** Стоп-розчину у кожен лунку. Змішайте лунки, обережно постукуючи вказівним пальцем по боці тримача смужки протягом приблизно **15 секунд**.
 10. Зчитати протягом 1 години після додавання Стоп-розчину.

* Промивання складаються з енергійного заповнення кожної лунки до переповнення та декантування вмісту три (3) окремі рази. Якщо ви використовуєте автоматичні промивачі: додайте 1 хвилину затримки часу між промиваннями та збільште кількість промивань з трьох до п'яти.

По можливості уникайте утворення бульбашок у лунках, оскільки це може вплинути на кінцеві результати.

10 ЗЧИТУВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Візуальне: Перегляньте кожен лунку на білому фоні (наприклад, паперовий рушник) і запишіть як чітку або +, ++ або +++ реакцію.

Зчитувач ELISA: Нульовий зчитувач в ефірі. Набір для біхроматичних показників при 450 / 620-650 нм

11 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Використання контролів дозволяє перевірити стабільність набору. Набір не слід використовувати, якщо будь-який контроль знаходиться поза діапазоном.

Очікувані значення для контролів:

Негативні - від 0.0 до 0.20 одиниць ОЩ

Позитивні - 0.50 одиниць ОЩ і вище.

12 ВИЯВЛЕННЯ НЕСПРАВНОСТЕЙ

Негативний контроль має надмірне забарвлення після розвитку.

Причина: неправильне миття.

Виправлення: ретельніше мити. Видалити надлишок рідини, постукуючи лунками по абсорбуючому рушнику. Не допускайте висихання тест-лунок.

13 ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

13.1 Інтерпретація результатів - ELISA зчитувач

Нульовий ELISA зчитувач. Зчитати всі лунки при 450/650-620 нм.

Позитивне - зчитування оптичної щільності дорівнює або перевищує 0.3 ОЩ одиниці.

Негативне - зчитування оптичної щільності менше ніж 0.3 ОЩ одиниці.

13.2 Інтерпретація Результатів - Візуально

Порівняйте результати з контролями.

Зразок слід інтерпретувати як позитивний, якщо ступінь забарвлення є значним і очевидним.

13.3 Обмеження процедури

Діагностика інфекції *E. histolytica* не повинна проводитись лише на основі результатів тесту ELISA *E. histolytica*, а разом з іншими клінічними ознаками та симптомами та іншими лабораторними результатами. При встановленні діагнозу слід враховувати епідеміологічні фактори, клінічні дані, вплив ендемічних регіонів та інші лабораторні результати.

13.4 Очікувані значення

Кількість пацієнтів з позитивними антитілами в популяції залежить від двох факторів: поширеності захворювання та клінічних критеріїв, що використовуються для відбору досліджуваної популяції. Оскільки у випадково обстеженій популяції в неендемічній зоні слід спостерігати дуже мало позитивних результатів, більшість серологічних тестів недостатньо специфічні для скринінгу неендемічних популяцій. Навіть в ендемічній області серологічний скринінг часто дає багато помилково позитивних результатів, якщо він використовується для випадкового скринінгу пацієнтів. Серологічні тести є корисними для тестування в ендемічному регіоні пацієнтів, з ознаками та симптомами, що відповідають захворюванню.

14 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

		Референсний метод*	
		+	-
EIA-3474	+	14	0
	-	0	65

Позитивне узгодження: 100% (14/14)

Негативне узгодження: 100% (65/65)

*Референсний метод посилається на комерційно доступний ELISA.



ВИРОБНИК

DRG Instrumente GmbH
вул. Фраунберг 18, 35039
м. Марбург, Німеччина
Тел: +49(0)64 21/170 00
Факс: +49(0)64 21/17 00 50
www.drq-diagnostics.de
e-mail: drq@drq-diagnostics.de



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

