

НАБОР ИФА ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНФЕКЦИИ ШАГАСА (*TRYPANOSOMA CRUZI*)

8100-29, Chagas

Каталог. № : 8100-29
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 25-06-2008



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

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Для качественного определения в первую очередь IgG антител в сыворотке людей к *Trypanosoma cruzi* с использованием методики твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

Trypanosoma cruzi – протозойный паразит, который является возбудителем болезни Шагаса. Эта болезнь распространяется от южных Соединенных Штатов до Северной Аргентины и Чили. Болезнь передается людям через рану от укуса насекомых, переливание крови, и в новорожденных при инфекции плода. При острых инфекциях могут проявляться несколько симптомов или вовсе не проявляться. При хронических инфекциях может возникнуть воспалительная кардиомиопатия или серьезное расширение пищевода или ободочной кишки, известное как мегаболезнь. Использовался ряд диагностических методов, но обнаружение антител к антигенам *T. Cruzi* остается самым компетентным методом диагностики инфекции.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

В течение первой инкубации антитела сыворотки пациентов связываются с антигенами в анализируемой лунке. Последующая инкубация позволяет ферментному комплексу связаться с комплексом антиген-антитело. После нескольких промывок для удаления несвязанных ферментов добавляется субстрат, который в присутствии ферментного комплекса и перекиси образует синий цвет. Стоп раствор останавливает реакцию, превращая синий цвет в желтый.

РЕАГЕНТЫ

Позиция	Описание
Полоски для анализа	Микролуночки, содержащие антигены <i>Trypanosoma cruzi</i> - 96 лунок в рамке для полосок.
Ферментный конъюгат:	1 бутылка с 11 мл анти-человеческой Ig пероксидазы (HRP) в стабилизирующем буфере с тимеросалом.
Положительный контроль	1 флакон с 1 мл разбавленных <i>Trypanosoma cruzi</i> -положительных сывороток буфере с тимеросалом.
Отрицательный контроль	1 флакон с 1 мл разбавленных <i>Trypanosoma cruzi</i> -отрицательных сывороток буфере с тимеросалом.
Хромоген	1 бутылка с 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМВ).
Промывочный концентрат (20х)	1 бутылка с 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества с тимеросалом.
Буфер для разбавления	2 бутылки с 30 мл раствора буферизованного белка с тимеросалом.
Стоп раствор	1 бутылка с 11 мл 1М фосфорной кислоты.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не используйте растворы, если они выпадают в осадок или становятся мутными. Буфер для разбавления коллоидный раствор и может казаться непрозрачным. Кроме того, желатиновый осадок может формироваться на дне бутылки. Не пытайтесь повторно перерастворить этот осадок. Промывочный концентрат может кристаллизироваться после хранения при 4°C. Кристаллизация исчезает после разбавления до рабочего состояния.

Не используйте сыворотку, которая, возможно, использовалась для поддержки роста микроорганизмов, или мутную сыворотку исходя из насыщенного содержания липидов. Образцы с высоким содержанием липидов должны быть перед использованием очищены.

Не добавлять в образцы или в любые реагенты азиды.

Контроли и некоторые реагенты содержат тимеросал в качестве консерванта.

Обращайтесь со всеми сыворотками как будто с инфекционными. Отрицательный контроль был проверен необходимыми методами и оказался отрицательным к поверхностному антигену гепатита В и к ВИЧ антителам. Так как никакое испытание не может предоставить полной гарантии, что возбудителей инфекций нет, это изделие должно использоваться в соответствующих безопасных условиях, которые бы использовались при любых потенциальных возбудителях инфекций.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты, полоски и компоненты в бутылках:

Хранить при 2-8°C.

Гибкая бутылка с разбавленным промывочным буфером может храниться при комнатной температуре.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Промывочный буфер – снимите колпачок и добавьте содержимое бутылки к 475 мл дистиллированной воды. Перенесите разбавленный промывочный буфер в гибкую бутылку.

Замечание: промывки состоят из заполнения до края каждой лунки, вытряхивания содержимого и обратного заполнения.

Избегать образования пузырьков в лунках в течение этапов промывки.

Анализируемые образцы: Проведите разбавление сывороток пациентов 1:64 с помощью буфера для разбавления.

СБОР И ПОДГОТОВКА СЫВОРОТКИ

- Коагулируйте кровь и удалите сыворотку. Заморозьте образец до -20°C или ниже если он не используется сразу.
- Не инактивируйте сыворотку теплом.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов.

МАТЕРИАЛЫ

Поставляемые материалы

Микролуночный серологический ELISA набор *Trypanosoma cruzi*.

Требуемые, но не поставляемые материалы

- Пипетки.
- Гибкая бутылка для промывки полосок.
- Дистиллированная вода.
- ELISA спектрофотометр для считывания планшетов с фильтром 450/620-650 нм (выборочно, результаты могут считываться визуально).
- Пробирки для разбавлений сыворотки.

ПРОЦЕДУРА

1. Отломить требуемое количество лунок (две для контролей и определенного количества образцов) и положить в рамку для полосок.
2. Добавить 100 мкл отрицательного контроля в лунку #1, 100 мкл положительного контроля в лунку #2 и 100 мкл разбавленных (1:64) образцов для анализа в остальные лунки.
Замечание: Отрицательный и положительный контроли поставляются разбавленными. Не разбавить.
3. Инкубировать при комнатной температуре (15 - 25°C) в течении 10 минут.
4. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза с разбавленным промывочным буфером *.
5. Добавить в каждую лунку по 2 капли ферментного конъюгата.
6. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
7. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером.
8. Добавить в каждую лунку по 2 капли хромогена.
9. Инкубировать при комнатной температуре в течении 5 минут.
10. Добавить по 2 капли стоп раствора.
11. В рабочем состоянии установить на нуль планшетный считыватель ELISA, считайте лунки при 450 нм с референтным фильтром при 620-650 нм или считать результаты визуально.

* Промывки состоят из использования разбавленного промывочного буфера для заполнения до края каждой лунки, вытряхивания содержимого и обратного заполнения лунок в общем количестве 3 раза.

Избегайте образования пузырьков в лунках в течение этапов промывки.

Контроли должны быть включены во время каждой процедуры.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

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

Спектрофотометр:

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

Положительный - мера поглощения света считывания больше или равна 0.2 единицы ОП.

Отрицательный - мера поглощения света считывания меньше чем 0.2 единицы ОП.

Визуальный

Образец должен интерпретироваться как положительный если степень цветного развития очевидна и значительна.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование положительного и отрицательного позволяет облегчить проверку правильности стабильности набора. Для действительного анализа положительный контроль должен быть более чем 0.3 единицы ОП, и отрицательный контроль должен быть ниже 0.2 единицы. Если значения выходят за эти диапазоны, набор не должен использоваться.

Рабочие характеристики			
		ІНА	
		+	-
ДАИ	+	24	3
	-	1	97

Чувствительность: 24/25 = 96%

Специфичность: 97/100 = 97%

ОБНАРУЖЕНИЕ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ

Проблема: Отрицательный контроль значительно развил цвет.

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



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com