

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К ТОКСОКАРЕ

8206-35, Toxocara IgG

Каталог. № : 8206-35
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 11-06-2012



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

Анализ	Toxocara ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	88 %
Чувствительность	93 %
Общее время	~ 20 мин.
Срок годности	12 мес.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для качественного скрининга сыворотки на IgG антитела к токсокаре, используя методику ИФА.

ВВЕДЕНИЕ

Токсокароз – это инфекция, которая вызывается круглым червяком класса *Toxocara* (часто *T. canis*, иногда *T. cati*) и приобретается при проглатывании почвы, зараженной эмбриональными яйцами из экскрементов животных. Эти яйца становятся эмбрионами через 2-5 недель после того, как были переданы животным. Таким образом, заражение человеком не происходит при контакте с свежими экскрементами. К тому же инфицированные люди не могут передавать инфекцию другим людям.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследуемые микролунки покрыты выводным / секреторным антигеном из личинки токсокары. Во время первой инкубации с разбавленной сывороткой пациента, любые антитела, которые реактивны к антигену, будут привязываться к стенкам лунок. После промывания для удаления остатков образца, добавляется ферментный конъюгат. Если к лункам привязаны антитела, этот ферментный конъюгат позже свяжется с ними. После следующих серий промывания добавляется хромоген (тетраметилбензидин или ТМВ). Если присутствует ферментный конъюгат, пероксидаза будет катализировать реакцию, во время которой поглощается перекись и превращает хромоген из прозрачного в голубой цвет. Добавление стоп раствора останавливает реакцию и превращает хромоген из прозрачного в голубой цвет. Реакцию тогда можно считывать визуально или с помощью считывателя ИФА.

РЕАГЕНТЫ

- Тестовые стрипы: микролунки, содержащие антиген токсокары – 96 или тестовых лунок в рамке для стрипов.
- Ферментный конъюгат: 1 бут., содержащая 11 мл белка А, конъюгированного пероксидазой.
- Положительный контроль: 1 фл., содержащий 1 мл разбавленной положительной сыворотки кролика.
- Отрицательный контроль: 1 фл., содержащий 1 мл разбавленной отрицательной человеческой сыворотки.
- Хромоген: 1 бут., содержащая 11 мл хромогена ТМВ.
- Концентрат промывочного раствора (20х): 1 бут., содержащая 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного вещества.
- Буфер для разбавления: 2 бут., содержащие 30 мл раствора ферментозависимого белка.
- Стоп раствор: 1 бут., содержащая 11 мл 0.73 М фосфорной кислоты.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

Не используйте раствор, если есть осад или помутнение. Промывочный концентрат может показывать кристаллизацию при хранении при 2-8°C. Кристаллизация растворяется после разбавления до рабочего состояния.

Не используйте сыворотку, которая вероятно способствовала микробиологическому росту, или которая мутная через высокое содержание липидов. Образцы при высоком содержании липидов, необходимо очистить перед использованием.

Работайте со всеми образцами сыворотки как с потенциально инфекционными. Отрицательный контроль подвергался проверке соответствующими методиками и дал отрицательный результат к поверхностному антигену гепатита В и к ВИЧ-антителам. Данное изделие должно использоваться при соответствующих мерах предосторожности, применяемых для любого потенциального носителя инфекции.

Не добавляйте азиды к образцам или другим реагентам.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, стрипы и компоненты:

Хранить при 2-8°C.

Сдавливающая бутылка, содержащая разбавленный промывочный буфер может храниться при комнатной температуре.

ПОДГОТОВКА

Промывочный буфер: Удалите крышку и добавьте содержимое бутылки к 475 мл реагенту градуированной воды. Поместите разбавленный промывочный буфер в сдавливающую бутылку с узким открытым наконечником.

Примечание: Промывание состоит из наполнения каждой лунки до края, смешивания содержимого и повторного наполнения.

Избегайте образования пузырей в лунках во время этапов промывания.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ СЫВОРОТКИ

Коагулируйте кровь и заберите сыворотку. Заморозьте образцы при -20°C или ниже, если не используете немедленно.

Не нагревайте инактивированную сыворотку и избегайте повторного замораживания и оттаивания образцов.

Образцы для исследования: приготовьте 1:64 разбавление сывороток пациентов, используя буфер для разбавления (напр., 5 мкл сывороток и 315 мкл буфера для разбавления).

ПРОЦЕДУРА

Поставляемые материалы

Серологический микролуночный набор ИФА для определения токсокары.

Материалы необходимые, но не поставляемые

- Пипетки
- Сдавливающая бутылка для промывания стрипов (рекомендуется с узким наконечником)
- Реагент градуированной воды и градуированный цилиндр
- Пробирки для разбавления образцов
- Промокательная бумага

Рекомендуемые материалы

Планшетный считыватель ИФА с 450 нм и 650-620 нм фильтром (необязательно, если результаты считываются визуально).

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- Отделите необходимое число лунок (два контроля плюс число образцов) и поместите в держатель для стрипов.
- Добавьте 100 мкл (или две капли) отрицательного контроля в лунку 1, 100 мкл положительного контроля в лунку 2 и 100 мкл разбавленных (1:64) образцов в оставшиеся лунки.
Примечание: Отрицательные и положительные контроли поставляются разбавленными, не разбавляйте их дальше.
- Инкубируйте при комнатной температуре (15-25°C) 10 минут.
- Вытряхните содержимое и промойте 3 раза разбавленным промывочным буфером.
- Добавьте 2 капли ферментного конъюгата в каждую лунку.
- Инкубируйте при комнатной температуре 5 минут.
- Вытряхните содержимое и промойте 3 раза разбавленным промывочным буфером. Резко ударьте лунками о бумажные полотенца для удаления остатков влаги.
- Добавьте 2 капли хромогена в каждую лунку.
- Инкубируйте при комнатной температуре 5 минут.
- Добавьте 2 капли стоп раствора и смешайте, постукиванием по рамке для стрипов.

СЧИТЫВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Визуально: посмотрите на каждую лунку на белом фоне (например, против бумажного полотенца) и зафиксируйте как чистая или +, ++ или +++ реакция.

Считыватель ИФА: обнулите считыватель вхолостую. Установите бихроматическое считывание при 450/650-620 нм.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Серологические результаты используются в целях диагностики, но не должны использоваться как единственный метод диагноза.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование контролей дает возможность оценки стабильности набора. Не используйте набор, если один из контролей не попадают в границы.

Ожидаемые значения для контролей равны:

Отрицательные – 0,0 – 0,3 единиц ОП

Положительные: - 0,5 единиц ОП и выше

ОБНАРУЖЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОВ

Отрицательный контроль имеет чрезмерно насыщенный цвет после развития.

Причина: неадекватное промывание

Устранение: промывайте более тщательно. Удалите остаток жидкости из лунок, постукиванием на промокательную бумагу.

Не давайте возможности исследуемым лункам высохнуть.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – считыватель ИФА

Обнулите считыватель ИФА вхолостую. Считайте все лунки при 450/650-620 нм.

Положительные – считанная абсорбция равна или выше 0,3 единиц ОП.

Отрицательные – считанная абсорбция ниже 0,3 единиц ОП.

Отрицательное считывание ОП указывает, что пациент не имеет определяемого уровня антител. Это может быть по причине отсутствия инфекции или низкой иммунной реакции пациента.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – ВИЗУАЛЬНАЯ

Сравните результаты с контролями. Образцы должны интерпретироваться как положительные, если степень развития цвета является значительной и явной.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Число пациентом, демонстрирующих положительные результаты, может значительно отличаться между совокупностями и географическими регионами. По возможности каждая лаборатория должна установить собственные нормальные границы для совокупности пациентов.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Исследование №1 – канадский референтный центр сравнил данный набор с другим имеющимся в продаже набором ИФА. Полученное соответствие составило 84%.

Исследование №2 – клиника Майо

		Референтный метод	
		+	-
DAI	+	21	1
	-	3	14

Специфичность – 87,5% (21/24)

Чувствительность – 93.3% (14/15)



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