



ТЕСТ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ АНТИТЕЛ КЛАССА IgA К CHLAMYDIA TRACHOMATIS МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ТВЕРДОФАЗНОГО АНАЛИЗА (ИФА)

Тест для количественного определения IgA антител к
Chlamydia trachomatis в сыворотке крови человека

Кат.№ 1417Z
Производитель: Diagnostic Automatic, Inc., (США)

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

Методика от 08-30-2012

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Анализ	Chlamydia IgA ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигеном планшет
Диапазон обнаружения	Количественный - положительный; отрицательный контроль и пороговое значение (cut-off)
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	94 %
Чувствительность	100 %
Общее время	~ 90 мин.
Срок годности	12-18 мес.

*Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание

НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор используется для определения специфического антитела IgA к хламидии в одном образце человеческой сыворотки ферментно-связывающим иммуносорбентным анализом.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген хламидии трахоматис привит к поверхности микролунок. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки специфическое IgA антитело, если присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления энзимного конъюгата, он связывается с антитело-антиген комплексом. Излишки конъюгата вымываются и добавляется субстрат. Каталитическая реакция ферментного конъюгата останавливается в определенное время. Интенсивность цвета пропорциональна количеству специфического IgA антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы хранятся при 2-8°C до семи дней и замороженными до шести месяцев. Избегайте повторных циклов замораживания/размораживания.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Поставляемые материалы

1. **Стрипы микропланшета:** лунки, покрытые хламидией трахоматис – 12 x 8 лунок.
2. **Разбавитель образцов:** раствор голубого окраса – 1 флакон/22 мл.
3. **Отрицательный контроль:** диапазон указан на этикетке, прозрачный колпачок – 1 фл./150 мкл.
4. **Калибратор:** значение коэффициента (f) указано на этикетке, красный колпачок – 1 фл./150 мкл.
5. **Положительный контроль:** диапазон указан на этикетке, зеленый колпачок – 1 фл./150 мкл.
6. **Промывочный концентрат:** 10x концентрат, белый колпачок – 1 бут. /100 мл.

7. **Ферментный конъюгат:** раствор красного цвета – 1 фл./12 мл.
8. **Хромогенный раствор ТМБ:** янтарная бутылка – 1 фл./12 мл.
9. **Стоп-раствор:** 2N HCl – 1 фл./12 мл.

ПРИГОТОВЛЕНИЯ К АНАЛИЗУ

1. Приготовьте 1x промывочный буфер. Приготовьте промывочный буфер добавлением дистиллированной или деионизированной воды в 10x промывочный концентрат до конечного объема 1 л.
2. Приведите все образцы и реагенты к комнатной температуре (20-25°C) и хорошо смешайте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите необходимое количество стрипов в держатель.
2. Приготовьте 1:40 разбавление добавлением 5 мкл образцов, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора в 200 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно перемешайте.
3. Внесите 100 мкл разбавленных сывороток, калибратора и контролей в соответствующие лунки. Для реагента бланка, внесите 100 мкл абсорбирующего раствора в лунку А1. Встряхните держатель для удаления пузырей и перемешайте. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
4. Удалите жидкость из лунок. Повторите промывание промывочным буфером три раза.
5. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
6. Удалите ферментный конъюгат с лунок. Повторите промывание промывочным буфером три раза.
7. Внесите 100 мкл хромогенного субстрата ТМБ и инкубируйте 15 мин. при комнатной температуре.
8. Добавьте 100 мкл стоп-раствора для остановки реакции. Перед считыванием убедитесь, что в лунках нет воздушных пузырей
9. Считайте ОП ридером при 450 нм.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Для получения порогового значения ОП: Умножить ОП калибратора на коэфф., напечатанный на этикетке калибратора.
2. Вычислите коэффициент Chlamydia IgA каждого определения делением значения ОП каждого образца на полученную ОП порогового значения.

Пример:

Если значение коэфф. (f) на этикетке = 0,4

Полученная ОП калибратора = 1,100

ОП порогового значения = 1,100 x 0,4 = 0,44 (по определению коэфф. Chlamydia Trachomatis = 1)

ОП образца пациента = 0,580

Коэфф. Chlamydia Trachomatis = 0,580/0,44 = 1,32 (положительный результат)

ОП образца пациента = 0,320

Коэфф. Chlamydia Trachomatis = 0,320/0,44 = 0,73 (отрицательный результат)

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Анализ будет действительный при соблюдении следующих критериев:

1. Значение ОП реагента бланка вхолостую должно быть меньше, чем 0,250.
2. Если значение ОП калибратора ниже, чем 0,250, тест не действительный и его необходимо повторить.
3. Коэффициент IgA для отрицательного и положительного контроля должен быть в диапазоне, указанном на этикетке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

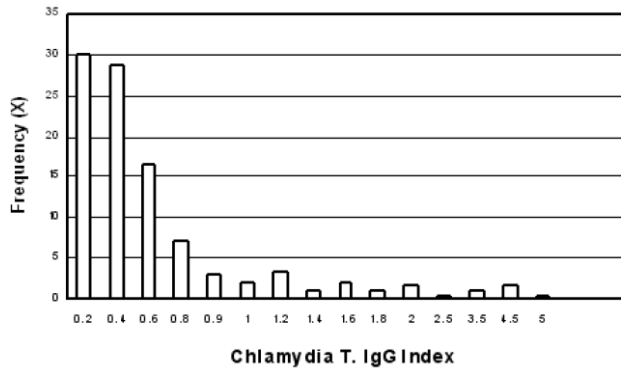
Отрицательный: Коэффициент IgA равен 0,90 или меньше является серо-отрицательным к IgA антитела.

Сомнительный: Коэффициент IgA равен 0,91-0,99 является сомнительным. Образцы следует тестировать повторно.

Положительный: Коэффициент IgA равен 1,00 или выше.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Данным анализом были определены 216 случайных образцов. Результаты теста были вычислены как коэффициент IgA, с использованием выборочно установленной сыворотки (величина исключения) как коэффициент IgA 1. Распределение частоты против коэффициента IgA представлено как: 20 – положительные (9,3%) и 192 - отрицательные (88,92%).

**РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ****Чувствительность и специфичность**

40 сывороток пациента были протестированы данным тестом и другим рекомендуемым ELISA методом. Результаты показаны ниже:

		Референтный ИФА		
		О	П	Всего
ИФА DAI	О	33 (D)	0 (B)	33
	П	2 (C)	5 (A)	7
	Всего	35	5	40

Чувствительность = $A / (A+B) = 5 / (5+0) = 100\%$

Специфичность = $D / (C+D) = 33 / (33+2) = 94\%$

Точность (полное согласование) = $(A+D) / (A+B+C+D) = 38 / 40 = 95\%$

Точность

Точность анализа была оценена тестированием трех разных сывороток восьми репликатов в течение 3 дней. Результаты показаны в таблице:

К-во=8	Отрицат.	Низко положит.	Положит.
В анализе	13,5%	11,8%	8,1%
Между анализами	15,4%	13,2%	10,2%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Один образец сыворотки не может использоваться для определения недавней инфекции.
2. Образец сыворотки, взятый на ранней стадии острой фазы инфекции, может содержать низкий уровень антитела IgA и в результате коэффициент IgA будет отрицательным.
3. Как и при других диагностических процедурах, результаты этого анализа должны использоваться вместе с доступными клиническими данными и результатами другой диагностической процедурой.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ, ни один из известных методов не может дать полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами, как с потенциально инфекционным материалом.
2. Не пипетируйте ртом. Не ешьте, не пейте и не курите в местах использования реагентов.
3. Компоненты набора предназначены для использования как единое целое. Не смешивайте компоненты разных партий реагентов.
4. Это изделие содержит компоненты с азидом натрия. Азид натрия может реагировать с свинцом и медью и формировать взрывоопасное вещество. При попадании промойте большим количеством воды.
5. Хранить набор при 2-8°C.
6. Храните микролунки запечатанными в сухом пакете с осушителем. Мы рекомендуем использовать все лунки в течение 4 недель после первого вскрытия.
7. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности.
8. Не подвергать реагенты влиянию жары, солнца и света.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

ООО «ДИАМЕБ»

Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.ua

www.diameb.ua