

НАБІР ІФА ДЛЯ ЯКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ КЛАСУ IgG ДО ІНФЕКЦІЇ ФАСЦІОЛИ

8119-35, Fasciola IgG

Каталог. №: 8119-35

Методика від 01-10-2013

Кількість : 96

Виробник : DAI, (США)



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

Аналіз	Fasciola IgG ELISA
Метод	Твердофазний імуферментний аналіз
Принцип	Непрямої ІФА; планшет, покритий антигеном
Діапазон визначення	Якісний: позитивний, негативний
Зразок	5 мкл
Час виконання	~15 хв.
Термін придатності	12 міс.
Специфічність	100%
Чутливість	100%

ПРИЗНАЧЕННЯ

Даний набір ІФА призначений для якісного визначення антитіл до Фасціоли в зразках сироватки або плазми людини. Це дослідження призначене для виконання тільки кваліфікованим медичним персоналом.

ОПИС І ПОЯСНЕННЯ АНАЛІЗУ

(Див. в оригіналі інструкції англ. мовою).

ПРИНЦИП ДОСЛІДЖЕННЯ

Лунки покриті рекомбінантним антигеном *Fasciola*. Під час першої інкубації з розведеними зразками сироватки пацієнта, будь-які антитіла, які взаємодіють з антигеном, зв'язуються з обробленими лунками. Після промивання, щоб видалити решту зразка, додається ферментний кон'югат. Якщо антитіла зв'язалися з лунками, то ферментний кон'югат потім зв'язується з цими антитілами. Після серій промивок додається хромоген (тетраметилбензидин/ТМБ). Якщо присутній ферментний кон'югат, пероксидаза каталізує реакцію, яка поглинає перекис і змінює хромоген з прозорого на блакитний. Додавання стоп-розчину зупиняє реакцію і перетворює синій колір на яскраво-жовтий. Реакція може бути оцінена візуально або за допомогою ІФА-зчитувача.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Сироватка або плазма може зберігатися при температурі 2-8°C протягом п'яти днів. Зразки можуть бути заморожені при температурі нижче -20°C протягом тривалого періоду часу. Заморожування зразків цільної крові не рекомендується.

Не нагрівати інактивовані зразки і уникати повторного заморожування і відтавання зразків.

МАТЕРІАЛИ І КОМПОНЕНТИ

Матеріали, які входять до складу набору

1. **Планшет:** мікролунки, що містять рекомбінантні антигени *Fasciola* - 96 тест-лунок в тримачі для смужок.
2. **Ферментний кон'югат:** один (1) флакон з 11 мл протеїну А, кон'югованого з пероксидазою.
3. **Позитивний контроль:** Один (1) флакон, що містить 1 мл розведених позитивних сироваток кролика.
4. **Негативний контроль:** Один (1) флакон, що містить 1 мл розведених сироваток людини.
5. **Хромоген:** Один (1) флакон, що містить 11 мл хромогену тетраметилбензидину (ТМБ).
6. **Промивальний концентрат 20x:** Один (1) флакон, що містить 25 мл концентрованого буферу і поверхнево-активних речовин.
7. **Буфер для розведення:** два (2) флакони, що містять 30 мл буферного розчину протеїну.
8. **Стоп-розчин:** 1 (один) флакон з 11 мл 1М фосфорної кислоти.

Необхідні матеріали, що не входять до складу набору

1. Мікропіпетки
2. Гнучка пляшка для промивання стрипів (рекомендується з вузьким наконечником)
3. Дистильована вода
4. Мірна колба
5. Пробірки для розведення зразків
6. Фільтрувальний папір
7. ІФА-рідер з 450 нм і 620-650 нм фільтрами (додатковий, якщо результати можна побачити наочно).

Рекомендована температура

Всі інкубації проводити при кімнатній температурі (15-25 °C).

ПІДГОТОВКА

- Перед використанням доведіть всі реагенти та зразки до кімнатної температури (15-25 °C) і перемішайте.
- (20x) промивний концентрат може дати осад при зберіганні в холодильнику, але стане розчином коли доведи до кімнатної температури і перемішувати. **Переконайтеся, що (20x) промивний концентрат знаходиться повністю розчинений перед розведенням до робочої концентрації.** Для розведення (20x) промивного концентрату до робочого стану зніміть ковпачок і додайте вміст однієї пляшки промивного концентрату до гнучкої пляшки, що містить 475 мл дистильованої води. Перемішати круговими рухами. Гнучка пляшка повинна мати вузький наконечник для оптимізації промивань.

ПРОЦЕДУРА

Примітки:

- Переконайтеся, що всі зразки і реагенти досягли кімнатної температури (15-25 °C).
- Під час процедури аналізу намагайтеся уникати утворення бульбашок в лунках. Вони можуть вплинути на загальну працездатність зчитування кінцевих результатів. Постукування лунк об чистий промокальний рушник після кожного етапу має допомогти мінімізувати бульбашки в лунках.
- Негативні і позитивні контролю поставляються розведеними. В подальшому НЕ розбавляють.

1. Відламайте необхідну кількість лунок (чотири для контролів і для певної кількості зразків) і помістіть в тримач для смужок.
2. Розбавте в буфері для розбавлення сироватки пацієнтів 1:64 (напр., 5 мкл сироваток та 315 мкл буферу).
3. Додати 100 мкл негативного контролю в лунку №1 та 100 мкл позитивного контролю в лунку №2 та 100 мкл розведених зразків в решту лунок.
4. Інкубувати при кімнатній температурі протягом 5 хвилин, потім промити*. Після останньої стадії промивки постукати лунками об фільтрувальний рушник, щоб видалити залишки промивного буфера.
5. Додати в кожен лунку 100 мкл ферментного кон'югату.
6. Інкубувати при кімнатній температурі протягом 5 хвилин, потім промити*. Після останньої стадії промивки постукати лунками об фільтрувальний рушник, щоб видалити залишки промивного буфера.
7. Додати в кожен лунку 100 мкл хромогену.
8. Інкубувати при кімнатній температурі протягом 5 хвилин.
9. Додати в кожен лунку 100 мкл стоп-розчину. Змішати вміст лунок, обережно постукуючи по краю тримача смужки вказівним пальцем протягом приблизно 15 секунд.
10. Розглянути результат протягом однієї години після додавання стоп-розчину.

* Промивання складається з активного заповнення кожної лунки до країв і видалення вмісту в трьох (3) окремих процедурах. При можливості, уникати утворення бульбашок в лунках, так як це може вплинути на кінцеві результати.

РЕЗУЛЬТАТИ

Візуально: подивіться на кожен лунку проти білого фону (наприклад, паперового рушника) і зафіксуйте реакцію як прозора, +, ++ чи +++.

ІФА-зчитувач: обнулiть зчитувач в робочому режимі. Встановіть біхроматичне зчитування при 450/620-650 нм.

ВИЯВЛЕННЯ І ВИРІШЕННЯ ПРОБЛЕМ

Негативний контроль значно розвинув колір.

Причина: Невідповідні промивки.

Усунення: Видаліть залишок рідини з лунок постукуючи ними об промокальний рушник. Не дозволяйте висихати досліджуваним лункам.

Інтерпретація дослідження

Первинно неактивні (ОЩ від 0,0 до 0,15): Зразки інтерпретувалися як неактивні (0,0-0,15 одиниць оптичної щільності, або нуль до трох кольорів) вказують, що антитіла не

присутні в зразка. Оскільки антитіла не можуть бути присутніми на ранніх стадіях захворювання, для лабораторної діагностики рекомендоване підтвердження через 2-4 тижнів потому.

Первинно слабо реактивні (ОЩ від 0,15 до 1,0): слабо реактивні зразки повинні бути інтерпретовані з обережністю. У нормальних популяціях слабо реактивні зразки трапляються рідко, але можливі. Рекомендується підтвердження з використанням зразка через 2-4 тижні (парні гострі та сироватки видужуючих).

Первинно реактивні (ОЩ більше 1,0): Зразки інтерпретуються як сильно реактивні (> 1,0 ОЩ або + + +), що може вказувати на присутність специфічних антитіл. Присутність антитіл сама по собі не може бути використана для діагностики гострої інфекції, тому що антитіла від попереднього впливу можуть циркулювати протягом тривалого періоду часу.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Використання контролів дозволяє полегшити перевірку стабільності набору. Набір не повинен використовуватися якщо будь-який з контролів виходить за діапазон.

Очікувані значення для контролів:

Негативний - 0,0 до 0,15 одиниці ОЩ.

Позитивний - 0,5 одиниць ОЩ і вище.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

		Референтний метод*	
		+	-
ДАІ	+	14	0
	-	0	65

Позитивне співпадання: 100% (14/14)

Негативне співпадання: 100% (65/65)

*Референтний метод відноситься до комерційно доступного ІФА.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Діагностика інфекції *Fasciola* не повинна виконуватись тільки на підставі результатів єдиного ІФА-дослідження, але в поєднанні з іншими клінічними ознаками, симптомами та результатами інших лабораторних досліджень.

Епідеміологічні фактори, клінічні дані, вплив ендемічних регіонів, а також інші лабораторні результати повинні враховуватися при постановці діагнозу.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Кількість позитивних осіб в популяції залежить від двох факторів: поширеності захворювання і клінічних критеріїв, які використовуються для вибору досліджуваної популяції, тому що дуже мало позитивних слід розглядати у вибірково перевіреного населення в неендемічних областях. Більшість серологічних тестів не є досить специфічними, щоб оцінювати неендемічне населення. Навіть в ендемічних районах, серологічний скринінг часто дає багато помилкових позитивних результатів при застосуванні до випадкової вибірки пацієнтів. Серологічні тести є корисними для тестування пацієнтів в ендемічних районах з ознаками та симптомами відповідно до захворювання.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. **Не відхилятися від зазначених процедур при виконанні даного аналізу.** Всі розведення зразка, час інкубації / температура і промивання були оптимізовані до найкращих робочих характеристик. Відхилення від зазначених процедур можуть впливати на чутливість і специфічність аналізу.
2. Для використання тільки в діагностиці In Vitro.
3. Не замінювати реагенти між наборами із різних партій.
4. Не використовуйте реагенти у яких закінчився термін придатності. Дата закінчення терміну придатності на кожній етикетці реагенту. Використання реагентів після закінчення терміну придатності може вплинути на результати.
5. Невикористані лунки слід зберігати у мішечку з осушувачем, щоб захистити їх від вологи.
6. Не використовуйте розчини, якщо вони випадають в осад або стають мутними.
Вияток: Промивний концентрат може випадати в осад при зберіганні в холодильнику, але розчиняється після нагрівання.
7. Не слід додавати азида в зразки або реагенти.
8. Контролі і деякі реагенти містять тімеросал в якості консерванту, який може викликати подразнення шкіри, очей і слизових оболонок. У разі потраплення промийте очі або шкіру великою кількістю води.
9. Не рекомендується використовувати сироватку, яка сприяє зростанню мікробів або ж мутну, через високий вміст ліпідів. Зразки з високим вмістом ліпідів необхідно очистити перед використанням.
10. Поводитися з усіма зразками як з потенційно інфекційними матеріалами. Позитивний контроль був протестований і визначений як негативний до поверхневого антигену вірусу гепатиту та на антитіла до ВІЛ за допомогою необхідних методів випробувань. Дотримуйтеся обережності, щоб запобігти аерозолям та знезаражуйте будь-які бризки зразків.
11. Стоп-розчин є 5% розчином фосфорної кислоти у воді. При попаданні на шкіру промити великою кількістю води. Якщо кислота потрапляє в очі промийте їх великою кількістю води і зверніться до лікаря.

ЗБЕРІГАННЯ

1. Реагенти, смужки і компоненти в пляшках мають зберігатися при температурі 2-8°C.
2. Гнучка пляшка з розведеним промивним буфером може зберігатися при кімнатній температурі (15-25°C).



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com