

НАБІР РЕАГЕНТІВ

ТРИХІНЕЛА SPIRALIS IgG ELISA

Trichinella spiralis IgG ELISA

Каталог. №: EIA-3521

Дата випуску інструкції: 2018/08
Версія 3.0



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

1 ПРИЗНАЧЕННЯ

Даний тест – це якісний імуноферментний аналіз для визначення антитіл до *Трихінела* у зразках сироватки та плазми людини. Цей тест призначений для використання тільки кваліфікованими медичними технологіями.

1.1 Короткий опис

Трихінельоз, інфекція, спричинена нематодою *Trichinella spiralis*, набувається при вживанні сирого або недовареного м'яса (переважно свинини). Хоча нематода може зустрічатися у багатьох тварин по всьому світу, домашня свиня є основним джерелом інфекції в розвинених країнах. Серологія також була важливим інструментом діагностики трихінельозу протягом кількох десятиліть. Використовувалися різні методології, такі як ІФА, латексна аглютинація (LA), непряма гемаглютинація (ІНА) та флокуляція бентоніту (BFT). Хоча були виявлені різні класи антитіл, жоден клас не виявив вищих діагностичних здібностей порівняно з іншими. BFT був методом вибору для серології, але його недоліки: неспецифічні реакції, недостатньо чутливості (вимірювані антитіла часто з'являються лише через 3–4 тижні після зараження) та труднощі у проведенні тесту. Нещодавно екскреторно-секреторний (ES) антиген був очищений з личинок заражених свиней. Цей антиген має високий ступінь специфічності щодо *T. spiralis* і був використаний у кількох масштабних дослідженнях.

2 ПРИНЦИП ТЕСТУ

Мікролунки покриті Екскреторним (ES) антигеном *Трихінели*. Під час першої інкубації з розведеними сироватками пацієнта, будь-які антитіла, які реагують з антигеном, зв'язуватимуться з покритими лунками. Після промивання для видалення залишку зразка, додають ферментний кон'югат. Якщо антитіла були зв'язані з лунками, ферментний кон'югат зв'яжеться з цими антитілами. Після іншої серії промивань додають хромоген (тетраметилбензидин або ТМБ). Якщо присутній ферментний кон'югат, пероксидаза буде каталізувати реакцію, яка споживає пероксид і перетворює хромоген з прозорого на синій. Додавання стоп-розчину припиняє реакцію і перетворює синій колір у яскраво-жовтий. Потім реакцію можна зчитати візуально або за допомогою зчитувача ІФА.

3 РЕАГЕНТИ

| Елемент | Опис | Символ |
|----------------------------|---|------------------|
| Мікротитрові лунки | Мікролунки містять антигени ES <i>Трихінели</i> –96 лунок у тримачі для тест-смужок | MT PLATE |
| Ферментний кон'югат | Одна (1) пляшка, що містить 11 мл білка-А, кон'югованого з пероксидазою. | CONJ |
| Позитивний контроль | Один (1) флакон, що містить 1 мл розведеної позитивної сироватки кролика | CONTROL + |
| Негативний контроль | Один (1) флакон, що містить 1 мл розведеної негативної сироватки людини | CONTROL - |
| Хромоген ТМБ | Одна (1) пляшка, що містить 11 мл хромогену тетраметилбензидину (ТМБ) | SUBS TMB |
| Промивний концентрат (20X) | Одна (1) пляшка, що містить 25 мл концентрованого буферу та ПАР | WASH BUF |

| | | |
|----------------------|--|------------------|
| Буфер для розведення | Дві (2) пляшки, що містять 30 мл буферизованого розчину протеїну | SPECM DIL |
| Стоп-розчин | Одна (1) пляшка, що містить 11 мл 1M фосфорної кислоти | SOLN |

4 ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

- **Не відхиляйтесь від зазначених процедур під час виконання цього аналізу.** Усі розведення зразків, час інкубації/температури та промивання були оптимізовані для досягнення найкращих експлуатаційних характеристик. Відхилення від зазначених процедур можуть вплинути на чутливість та специфічність аналізу.
Тільки для діагностичного використання in vitro.
- Не змішуйте реагенти між наборами з різними номерами лотів.
- Не використовуйте реагенти, термін придатності яких закінчився. Термін придатності вказаний на кожній етикетці реагенту. Використання реагентів після закінчення терміну придатності може вплинути на результати.
- Невикористані мікролунки слід зберігати у пакеті з осушувачем, щоб захистити їх від вологи.
- Не використовуйте розчини, якщо вони випали в осад або помутніли.
Вияток: Промивний концентрат може осідати під час зберігання у холодильнику, але розчиняється при нагріванні.
- Не додавати азиди та будь-які реагенти до зразків.
- Контролі та деякі реагенти містять Тимеросал як консервант, який може подразнювати шкіру, очі та слизові оболонки. У разі контакту промити очі або шкіру великою кількістю води.
- Не використовуйте сироватку, яка могла б підтримувати 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 і виявлений негативним для поверхневого антигену гепатиту В та для антитіла до ВІЛ за допомогою необхідних методів тестування. Будьте обережні, щоб уникнути розпилювання та знезаразити будь-які розливи зразків.
- Стоп-розчин - це 5% розчин фосфорної кислоти у воді. У разі потрапляння на шкіру промийте великою кількістю води. Якщо кислота потрапила в очі, промийте великою кількістю води та зверніться до лікаря.

5 ЗБЕРІГАННЯ

- Реагенти, смужки та компоненти в пляшках слід зберігати при температурі від 2 °C до 8 °C.
- Гнучку пляшку, що містить розведений буфер для промивання, можна зберігати при кімнатній температурі (15 °C - 25 °C).

6 ПІДГОТОВКА

Перед використанням, довести усі реагенти та зразки до кімнатної температури (15 °C - 25°C) та перемішати.

(20X) Концентрат для промивання може випадати в осад під час зберігання у холодильнику, але повертається у розчин після доведення до кімнатної температури та перемішування. **Перед розведенням до робочої концентрації переконайтеся, що Промивний концентрат (20X) повністю розчинений.**

Для розведення (20X) Промивного концентрату до робочого розведення, зніміть кришку і додайте вміст однієї пляшки Промивного концентрату до гнучкої пляшечки, що містить 475 мл дистильованої води. Закрутити, щоб добре провести промивання.

7 ЗАБІР ТА ОБРОБКА ЗРАЗКІВ

Сироватку або плазму (зібрану з гепарином, EDTA або цитратом) слід зберігати при температурі від 2 °C до 8 °C, якщо її потрібно проаналізувати протягом 5 днів.
Зразки можна зберігати довше при температурі -20 °C або нижче протягом 1 року.
Не рекомендується заморожувати зразки цільної крові. Не нагрівайте інактивовані зразки та уникайте повторного заморожування та розморожування зразків.

8 ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

8.1 Матеріали, які постачаються

Набір *Трихінела spiralis* IgG ELISA

8.2 Необхідні матеріали, які не постачаються

- мікропіпетки

- гнучка пляшка для промивання смужок (рекомендується з вузьким наконечником)
- дистильована вода з реагентом у градуйованій ємкості
- градуйований циліндр
- пробірки для розведення зразків
- абсорбуючий папір
- таймер

8.3 Запропоновані матеріали

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

8.4 Відповідна температура

Усі інкубації проходять при кімнатній температурі (15 °C - 25 °C).

8.5 Процедура тестування

Примітки:

- Переконайтеся, що всі зразки та реагенти мають кімнатну температуру (15 °C - 25 °C).
 - Під час проведення аналізу, постарайтеся уникнути утворення бульбашок у лунках. Бульбашки можуть вплинути на аналіз та зчитування кінцевих результатів. Витрушування лунок на абсорбуючий папір після кожного етапу промивання, мінімізує утворення бульбашок в лунках.
 - Негативні та позитивні контролю постачаються попередньо розведеними. НЕ РОЗВОДИТИ знову.
1. Відірвіть необхідну кількість лунок (дві для контролю плюс кількість зразків) і помістіть у тримач для смужок.
 2. Розведіть сироватку пацієнта 1:64 у буфері для розведення (наприклад, 5 мкл сироватки та 315 мкл буферу для розведення).
 3. Додати **100 мкл** негативного контролю в лунку 1,
100 мкл позитивного контролю в лунку 2 та
100 мкл розведених тест-зразків до решти лунок.
 4. Інкубувати при кімнатній температурі протягом **10 хвилин**, потім промити*. Після останнього промивання, витрусіть лунки на абсорбуючий папір, щоб виділити 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 промивання, витрусіть лунки на абсорбуючий папір, щоб виділити 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 тримачі приблизно протягом **15 секунд**.
 10. Зчитати протягом години після додавання Стоп-розчину.

* Промивання складається з наповнення кожної лунки до самого верху та зливання вмісту три (3) окремі рази.

Якщо ви використовуєте автоматичні промивачі: додайте 1 хвилину часу перебування між промиваннями та збільшіть кількість промивань з трьох до п'яти.

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

9 ЗЧИТУВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Візуально:

Подивіться на кожен лунку на білому тлі (наприклад, паперовий рушник) і запишіть як чисту або +, ++ або +++ реакцію.

Зчитувач ELISA:

Обнулити зчитувач. Набір для біхроматичних зчитувань при 450/620-650 нм.

10 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Використання контролів дозволяє перевірити стабільність набору. Набір не слід використовувати, якщо будь-який з контролів знаходиться за межами діапазону. Очікувані значення для контролів:

Негативні- 0.0 до 0.20 ОЩ одиниць

Позитивні- 0.50 ОЩ одиниць та вище

11 УСУНЕННЯ НЕСПРАВНОСТЕЙ

Негативний контроль після утворення має надмірне забарвлення.

- Причина:** Неправильне промивання.
Виправлення: Ретельніше промивати. Видаляти надмірну вологу з лунок, постукуючи ними по абсорбуючому папері. Не дозволяти лунками повністю висихати.

12 ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

12.1 Інтерпретація результатів – зчитувач ELISA

Нульовий зчитувач ELISA в робочому режимі. Зчитування всіх лунок при 450/620 до 650 нм.

Позитивний - показник абсорбції дорівнює 0,3 одиниці ОЩ або більше.

Негативний - показник абсорбції менше 0,3 одиниць ОЩ.

12.2 Інтерпретація результатів – візуально

Порівняти зразки пацієнтів з контролями.

Зразок слід інтерпретувати як позитивний, якщо ступінь розвитку кольору значний і очевидний.

13 ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Діагностувати інфекцію *Трихінели* не слід тільки на основі результатів тесту *Трихінела* ELISA, а разом з іншими клінічними ознаками та симптомами та іншими лабораторними даними. При постановці діагнозу слід враховувати епідеміологічні фактори, клінічні дані, вплив ендемічних регіонів та інші лабораторні результати.

14 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Кількість суб'єктів позитивних антитіл позитивних у популяції залежить від двох факторів: поширеності захворювання та клінічних критеріїв, що використовуються для відбору досліджуваної популяції. Оскільки у випадково обстеженої популяції в не ендемічній зоні слід спостерігати дуже мало позитивних результатів, більшість серологічних тестів недостатньо специфічні для скринінгу неендемічних популяцій. Навіть в ендемічному регіоні серологічний скринінг часто дає багато хибнопозитивних результатів, якщо він використовується для випадкового скринінгу пацієнтів. Серологічні тести корисні для тестування пацієнтів в ендемічному регіоні з ознаками та симптомами, що відповідають захворюванню.

15 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

| | | Референсний метод* | |
|----------|---|--------------------|----|
| | | + | - |
| EIA-3521 | + | 14 | 0 |
| | - | 0 | 65 |

Позитивне узгодження: 100% (14/14)

Негативне узгодження: 100% (65/65)

*Референсний метод відноситься до комерційно доступного 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

