



## Набор ИФА для определения антител класса IgG к *Strongyloides stercoralis*

Каталог. № : EIA-4208  
Количество : 96  
Производитель: DRG (США)

Методика от 05-2009

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

### 1. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментный анализ для качественного скрининга антител класса IgG к *Strongyloides stercoralis* в сыворотке.

### 2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Стронгилоидоз – это инвазия, вызываемая нематодой *Strongyloides stercoralis*. Этот организм – кишечная нематода, встречающаяся повсеместно, но чаще всего – в тропических и субтропических странах. Заболевание проявляется кишечными симптомами (слабая диарея). В меньшинстве случаев организм выходит за пределы кишечника и может привести к септическому шоку или менингиту. Серологические тесты определения Угрицы полезны только, если организм перешел в экстра-интестинальную форму, и в исключении организма из диагностики других заболеваний (особенно гематологических новообразований). Пациенты со Стронгилоидозом находятся в серьезном риске тяжелых заболеваний, если у них пониженный иммунный статус.

### 3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Микротитровальные лунки покрыты экскреторным антигеном *Strongyloides*. Во время первой инкубации с разведенными образцами сыворотки пациента, любые антитела, вступающие в реакцию с антигеном, свяжутся с покрытыми лунками. После промывки (для удаления остатков образца) добавляется ферментный конъюгат. В случае если антитела связались с лунками, то ферментный конъюгат свяжется с этими антителами. После второй промывки добавляется хромоген (тетраметилбензидин или ТМБ). В присутствии ферментного конъюгата, пероксидаза катализирует реакцию, которая поглощает перекись и меняет окрашивание хромогена на голубое. Для остановки индикаторной реакции добавляется стоп раствор, в результате чего голубое окрашивание меняется на желтое. Реакцию можно увидеть как наглядно, так и с помощью ИФА считывателя.

### 4. РЕАГЕНТЫ

- Тест полоски: микролунки, содержащие антигены *Strongyloides* – 96 или 48 тест лунок в держателе тест полосок.
- Ферментный конъюгат: один флакон, содержащий 11 мл Протеина А, конъюгированного к пероксидазе.
- Положительный контроль сыворотки: один флакон, содержащий 2 мл разведенной положительной кроличьей сыворотки.
- Отрицательный контроль сыворотки: один флакон, содержащий 2 мл разведенной отрицательной сыворотки человека.
- Раствор хромогена субстрата: один флакон, содержащий 11 мл хромогена тетраметилбензидина (ТМБ).
- Концентрат промывочного раствора (20х): один флакон, содержащий 25 мл концентрированного буфера и ПАВ.
- Буфер для разведения: два или один флакон, содержащий 30 мл буферного раствора протеина.
- Стоп раствор: один флакон, содержащий 11 мл 1 М фосфорной кислоты.

### 5. ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Не рекомендуется использовать мутные растворы или же если в них содержится осадок. Промывочный концентрат может кристаллизоваться при хранении при температуре 2-8° С. Кристаллизация исчезнет после раствора концентрата для работы с ним.
- Не рекомендуется использовать сыворотку, побуждающую рост микробов или же мутную из-за высокого содержания липидов. Перед использованием образцы с высоким содержанием липидов необходимо очистить.

- С сыворотками необходимо обращаться как с инфицированными веществами. Отрицательный контроль был протестирован и определен как отрицательный к поверхностному антигену гепатита В и к антителу к ВИЧ. Этот продукт необходимо использовать в соответствии с определенными мерами безопасности.
- Не следует добавлять азиды в образцы, или какие либо реагенты.

### 6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, стрипы и компоненты, содержащиеся во флаконах хранить при температуре 2 - 8° С. Гибкая бутылка, содержащая разведенный промывочный буфер, может храниться при комнатной температуре.

### 7. ПОДГОТОВКА

#### Промывочный буфер

Добавить содержимое флакона в 475 мл. в воду, содержащую реагенты. Поместить разведенный промывочный буфер в гибкий флакон с узким горлышком.

**Замечание:** Промывка состоит из следующих этапов: наполнение каждой лунки до краев, перемешивание содержимого и повторного наполнения лунок. Во время промывки избегайте образования в лунках пузырьков.

### 8. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА СЫВОРОТКИ

Дать крови свернуться и извлечь сыворотку. Заморозить образец до -20° С или ниже, в случае, если образец не используется.

Не нагревать инактивированную сыворотку и избегать повторного замораживания образцов.

**исследуемые образцы:** приготовить 1:64 раствора сыворотки пациента, используя буфер для разведения (напр. 5 мкл сыворотки и 315 мкл буфера для разведения).

### 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

#### 9.1 Материалы, поставляемые в наборе:

Набор ИФА *Strongyloides*.

#### 9.2 Необходимые, но не поставляемые в наборе материалы

- Пипетки
- Гибкая бутылка для промывки стрипов (рекомендуется с узким наконечником)
- Градуированная вода и мерная колба
- Пробирки для разведения образцов
- Промокательная бумага

#### 9.3 Рекомендуемые материалы

Планшетный ИФА-ридер с фильтром 450 нм и 650 - 620 нм (данные компоненты необязательны, если результаты можно увидеть наглядно).

#### 9.4 Проведение анализа

1. Отломить необходимое количество лунок (две для контролей плюс для образцов), поместить в держатель.
2. Добавить 100 мкл (или же 2 капли) отрицательного контроля в лунку №1, 100 мкл положительного контроля в лунку №2 и 100 мкл разведенных (1:64) исследуемых образцов в оставшиеся лунки.  
**Замечание:** Отрицательный и положительный контроли поставляются уже в разведенном виде. Не следует повторно разводить их.
3. Инкубировать при комнатной температуре (15 до 25° С) 10 минут.
4. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза разведенным промывочным буфером.
5. Добавить 2 капли ферментного конъюгата в каждую лунку.
6. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.
7. Вытряхнуть содержимое и промыть 3 раза промывочным буфером. Извлечь из планшет остатки влажности с помощью бумажного полотенца.
8. Добавить 2 капли хромогена в каждую лунку.
9. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.
10. Добавить 2 капли стоп раствора и тщательно смешать.

### 10. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

**Визуально:** Посмотрите на каждую лунку на белом фоне (напр. бумажное полотенце) и запишите - четко или +, ++ или же +++ реакция.

**ИФА-ридер:** Обнулите считыватель вхолостую. Установите для бихроматических считываний при 450/650-620 нм.

### 11. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Серологические результаты не рекомендуется использовать как единственный диагностический метод.

## 12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Использование контролей способствует стабильности набора. Не рекомендуется использовать набор, если хотя бы один из контролей находится вне предполагаемого предела. Ожидаемые значения для контролей следующие:

**Отрицательные** – от 0.0 до 0.2 единицы ОП.

**Положительные** - 0.5 единицы ОП и выше.

## 13. ВЫЯВЛЕНИЕ и УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

Отрицательный контроль после проявления имеет насыщенный цвет.

**Причина:** недостаточно промывок.

**Устранение:** промыть тщательнее. Извлечь остатки жидкости из лунок, выстучав ее на промокательную бумагу. Не дать лункам полностью высохнуть.

## 14. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ – ИФА-РИДЕР

Обнулить ИФА считыватель вхолостую. Считать все лунки при 450/650-620 нм.

**Положительный** – считывание оптической плотности превышает 0.2 единицы.

**Отрицательный** - считывание оптической плотности менее чем 0.2 единицы.

Положительное считывание ОП указывает на то, что пациент может быть инфицирован *Strongiloides*.

Отрицательное считывание ОП указывает на то, что у пациента нет обнаруживаемого уровня антител. Причиной тому может служить отсутствие инфекции или же слабая иммунная реакция пациента.

## 14.2 ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ - ВИЗУАЛЬНО

Сравните результаты с контролями. Образец необходимо рассматривать как положительный в случае значительного и явного проявления цвета.

## 15. ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Количество людей с положительными результатами может значительно изменяться в зависимости от населения и географических районов проживания. По возможности, каждой лаборатории рекомендуется устанавливать свои предполагаемые пределы обследуемой группы больных.

## ДАННЫЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Положительное совпадение: 100% (14/14).

Отрицательное совпадение: 100% (14/14).

## ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
Тел.: (0342) 775122  
Тел/факс: (0342) 775612  
E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)