

NOVATEC

IMMUNDIAGNOSTICA GMBH



# *Entamoeba histolytica*

IgG – ELISA

Fermentų imunityrimas kiekybiniam antikūnų prieš  
*Entamoeba histolytica* žmogaus serume nustatymui  
Tik *in-vitro* diagnostiniam panaudojimui

CE

---

Produkto numeris: ENTG0140 (96 reakcijos)

---



## TURINYS

<b>1. IVADAS</b>	<b>3</b>
<b>2. PANAUDOJIMAS</b>	<b>3</b>
<b>3. TYRIMO ESMĖ</b>	<b>3</b>
<b>4. MEDŽIAGOS</b>	<b>3</b>
4.1. REAGENTAI	3
4.2. MEDŽIAGOS	3
4.3. REIKALINGOS MEDŽIAGOS IR ĮRANGA	3
<b>5. STABILUMAS IR LAIKYMAS</b>	<b>4</b>
<b>6. REAGENTŲ PARUOŠIMAS</b>	<b>4</b>
6.1. PADENGTO NULAUŽIAMOS LAZDELĖS	4
6.2. <i>ENTAMOEBIA HISTOLYTICA</i> BALTYMO A KONJUGATAS	4
6.3. KONTROLĖ	4
6.4. IGG MĖGINIO SKIEDIKLIS	4
6.5. PLOVIMO TIRPALAS (20x KONC.)	4
6.6. TMB SUBSTRATO TIRPALAS	4
6.7. STOP TIRPALAS	4
<b>7. MĖGINIŲ RINKIMAS IR PARUOŠIMAS</b>	<b>4</b>
7.1. MĖGINIO SKIEDIMAS	4
<b>8. TYRIMO ATLIKIMO METODIKA</b>	<b>4</b>
8.1. TESTO PARUOŠIMAS	4
8.2. MATAVIMAI	5
<b>9. REZULTATAI</b>	<b>6</b>
9.1. VYKDYMO PATVIRTINIMO KRITERIJAI	6
9.2. REZULTATŲ SKAIČIAVIMAS	6
9.3. REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS	6
9.3.1. REZULTATAI <i>NovaTec</i> VIENETAIS	6
<b>10. SPECIFINĖS CHARAKTERISTIKOS</b>	<b>6</b>
10.1. TIKSLUMAS	6
10.2. DIAGNOSTINIS SPECIFIŠKUMAS	6
10.3. DIAGNOSTINIS JAUTRUMAS	6
10.4. TRUKDŽIAI	6
<b>11. METODIKOS APRIBOJIMAI</b>	<b>6</b>
<b>12. ĮSPĖJIMAI</b>	<b>6</b>
12.1. ATLIEKŲ ŠALINIMAS	7
<b>13. LITERATŪRA</b>	<b>7</b>
<b>14. UŽSAKYMO INFORMACIJA</b>	<b>7</b>



## 1. ĮVADAS

*Entamoeba histolytica* yra anaerobinis parazitas, suformuojantis cistas, kurios turi keturis mažus branduolius ir yra 10-15 µm diametro dydžio. Cistos yra tvirtos ir pakelia atšiaurias aplinkos sąlygas. Po patekimo į šeimininką (bestuburiai ir stuburiniai, t.p. žmogus), jos sienele yra suardoma, suformuojant mažą ertmę, pro kurią pasirodo ameba. Ameba dalijasi nuosekliai per tris ciklus; iš vienos cistos susidaro aštuoni vienbranduoliai trofozoitai, kurie yra judrūs ir yra 20-30 µm diametro dydžio. Kai kurie trofozoitai pakenkia storosios žarnos audinius ir gali juos taip giliai pažeisti, kad gali patekti į kraują. Todėl ameba gali pasiekti visas kūno dalis. *Entamoeba histolytica* infekcija yra labai plačiai paplitusi. Sukelia amebiazę ir amebinę dizenteriją, apsigyvena storosios žarnos gleivinėje, daugiausiai gaubtinėje ir aklojoje žarnoje. Žarnyno amebiazę gali pažeisti bet kurį organą ar audinį. Dauguma užkrėstų individų, simptomai nepasireiškia; tai labai apsunkina diagnozę ir gydymą. Kitiems pasireiškia labai įvairūs simptomai. Įvairių amžiaus grupių ir abiejų lyčių individai gali būti infekuoti. Užsikrėtimo galimybė didėja, esant nepakankamos higienos sąlygoms. Padidintas amebiazės paplitimas stebimas tarp žmonių, kurie yra sąlyginai labiau susiję su žemės ūkiu, ir tarp homoseksualių vyrų.

Rūšis	Liga	Simptomai	Užsikrėtimo mechanizmas
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebiazė Dizenterija Amebinis kepenų abscesas, smegenų abscesas Kepenų amebiazė Gaubtinės žarnos karcinoma	Nespecifinė diarėja Storosios žarnos uždegimas Pilvo spazmai, kraujingos išmatos, dizenterija	Perduodama per išmatas ar užkrėstą maistą/vandeni cistų patekimu per burną. Lytiniu keliu tarp vyrų homoseksualių.

Infekciją galima nustatyti

- Mikroskopiškai: išmatų tyrimas: geležies hematoksilino metodas, merthiolat iod formol concentration (MIFC)
- Serologiškai: CF, CIE, ELISA

## 2. PANAUDOJIMAS

„NovaTec“ *Entamoeba histolytica* IgG-ELISA yra skirtas kokybiniam antikūnų prieš *Entamoeba histolytica* antigenus žmogaus serume nustatymui. Ypač nesimptominiams nešiotojams ir neinvazinės amebiazės atvejams identifikuoti.

## 3. TYRIMO ESMĖ

Kokybinis imunofermentinis antikūnų prieš *Entamoeba histolytica* nustatymas yra paremtas ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) metodu. Ypač nesimptominiams nešiotojams ir pirminės neinvazinės amebiazės atvejams identifikuoti. Mikroplokštelių šulinėliai yra padengti *Entamoeba histolytica* antigenais, kurie turi rištis su atitinkamais antikūnais. Šulinėliai nuplaunami krienų peroksidaze (HRP) pažymėtu baltymo A konjugatu, pašalinant visas neprisijungusias medžiagas. Šis konjugatas prisijungia su pririštais *Entamoeba histolytica* antikūnais. Surišto konjugato imuninis kompleksas gali būti stebimas, pridant tetrametilbenzoinio (TMB) substrato, gaunamas mėlynas reakcijos produktas. Produkto intensyvumas yra proporcingas *Entamoeba histolytica* antikūnų kiekiui pavyzdyje. Reakcijos sustabdymui pridama sieros rūgšties. Gaunama geltona reakcijos pabaigimo spalva. Absorbencija 450 nm bangos ilgyje yra analizuojama ELISA mikroplokštelių skaitytuvu.

## 4. MEDŽIAGOS

### 4.1. Reagentai

- ***Entamoeba histolytica* padengti šulinėliai**: 12 atskiriamų 8-šulinėlių nulaužiamų lazdelių, padengtų *Entamoeba histolytica* antigenų; vakume, pakartotinai uždaroje aluminio folijoje.
- **IgG mėginio skiediklis\*\*\***: 1 buteliukas 100 ml buferio mėginių skiedimui; pH 7,2 ± 0,2; geltonos spalvos; paruoštas naudoti; baltas dangtelis.
- **Stop tirpalas**: 1 buteliukas 15 ml sieros rūgšties, 0,2 mol/l; paruoštas naudoti; raudonas dangtelis.
- **Plovimo tirpalas (20x konc.)\***: 1 buteliukas 50 ml 20-kartinės koncentracijos buferio (pH 7,2 ± 0,2) šulinėlių plovimui; baltas dangtelis.
- ***Entamoeba histolytica* baltymo A konjugatas\*\***: 1 buteliukas 20 ml peroksidazės baltymo A; raudonos spalvos, paruoštas naudoti; juodas dangtelis.
- **TMB substrato tirpalas**: 1 buteliukas 15 ml 3,3',5,5'-tetrametilbenzidino (TMB); paruoštas naudoti; geltonas dangtelis.
- ***Entamoeba histolytica* teigiama kontrolė\*\*\***: 1 buteliukas 2 ml; geltonos spalvos; paruoštas naudoti; raudonas dangtelis.
- ***Entamoeba histolytica* pabaigimo (cut-off) kontrolė\*\*\***: 1 buteliukas 2 ml; geltonos spalvos; paruoštas naudoti; žalias dangtelis.
- ***Entamoeba histolytica* neigiamas kontrolė\*\*\***: 1 buteliukas 2 ml; geltonos spalvos; paruoštas naudoti; mėlynas dangtelis.

\* tirpale yra 0.01 % Katono po skiedimo

\*\* tirpale yra 0.2 % Bronidokso L

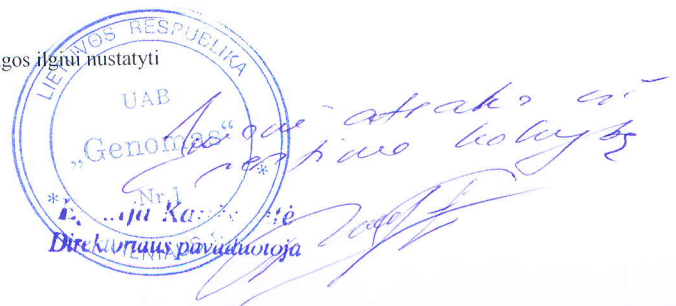
\*\*\* tirpale yra 0.1 % Katono

### 4.2. Medžiagos

- 1 lazdelės stovas
- 2 uždengimo folijos
- 1 testo protokolai
- 1 paskirstymo ir identifikavimo planas

### 4.3. Reikalingos medžiagos ir įranga

- ELISA mikroplokštelių skaitytuvas, nustatytas absorbcijai 450/620 nm bangos ilgiui nustatyti
- Termostatas 37°C
- Rankinis arba automatinis plokštelių skalavimo įrenginys
- Pipetės 10 ir 1000 µl tūriams



- Mėgintuvėlių vartytuvas
- Dejonizuotas arba (šviežiai) distiliuotas vanduo
- Vienkartiniai mėgintuvėliai
- Chronometras

## 5. STABILUMAS IR LAIKYMAS

Reagentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant pakuotės, jeigu laikomi 2...8 °C temperatūroje.

## 6. REAGENTŲ PARUOŠIMAS

*Labai svarbu atšildyti visus reagentus, mėginius ir kontroles iki kambario temperatūros (20...25°C) prieš vykdant testą!*

### 6.1. Padengtos nulaužiamos lazdelės

Paruoštos naudoti atskiriamos nulaužiamos lazdelės yra padengtos *Entamoeba histolytica* antigenų. Laikyti 2...8°C temperatūroje. Lazdelės yra vakume. Iš karto po panaudojimo, likusios lazdelės turi būti uždarnos aliuminio folijoje ir laikomos 2...8 °C temperatūroje; stabilumas išlieka iki galiojimo datos.

### 6.2. *Entamoeba histolytica* baltymo A konjugatas

Buteliuke yra 20 ml tirpalo su baltymu A, krienų peroksidaze, buferiu, stabilizatoriais, konservantais ir inertišku raudonu dažu. Baltymas A yra imunoglobulinus Fc-rišantis baltymas, kurio molekulimė masė yra 42,000 Daltonų. Tirpalas yra paruoštas naudoti. Laikyti 2...8°C temperatūroje. Pirmą kartą atidarius, stabilumas išlieka iki galiojimo datos, kai laikoma 2...8 °C temperatūroje.

### 6.3. Kontrolės

Buteliukuose, pažymetuose teigiama, pabaigimo (cut-off) ir neigiama kontrole yra 2 ml paruošto naudoti kontrolės tirpalo. Turi būti laikomas 2...8°C temperatūroje. Pirmą kartą atidarius, stabilumas išlieka iki galiojimo datos, kai laikoma 2...8 °C temperatūroje.

### 6.4. IgG mėginio skiediklis

Buteliuke yra 100 ml fosfato buferio, stabilizatorių, konservantų ir inertiško geltono dažo. Naudojamas paciento mėginio skiedimui. Šis paruoštas naudoti tirpalas turi būti laikomas 2...8°C temperatūroje. Pirmą kartą atidarius, stabilumas išlieka iki galiojimo datos.

### 6.5. Plovimo tirpalas (20x konc.)

Buteliuke yra 50 ml koncentruoto buferio, detergentų ir konservantų. Skiesti plovimo tirpalą 1+19; pvz.: 10 ml plovimo tirpalo + 190 ml redistiliuoto vandens. Praskiestas buferis gali būti laikomas 5 dienas kambario temperatūroje. Kristalai tirpale išnyksta, pakaitinus tirpalą iki 37 °C temperatūros vandens vonioje. Pirmą kartą atidarius, koncentratas yra stabilus iki galiojimo datos.

### 6.6. TMB substrato tirpalas

Buteliuke yra 15 ml tetrametilbenzidino/vandenilio peroksido sistemos. Reagentas yra paruoštas naudoti ir turi būti laikomas 2...8°C temperatūroje, tamsoje. Tirpalas turi būti bespalvis arba labai šviesiai mėšvas. Jeigu substratas virsta mėlynu, jis gali būti užterštas ir turi būti pakeistas. Pirmą kartą atidarius, stabilumas išlieka iki galiojimo datos, kai laikoma 2...8 °C temperatūroje.

### 6.7. Stop tirpalas

Buteliuke yra 15 ml 0,2 M sieros rūgšties tirpalo (R 36/38, S 26). Šis paruoštas naudoti tirpalas turi būti laikomas 2...8°C temperatūroje. Pirmą kartą atidarius, stabilumas išlieka iki galiojimo datos.

## 7. MĖGINIŲ RINKIMAS IR PARUOŠIMAS

Šitam tyrimui naudokite žmogaus serumo mėginius. Jeigu tyrimas atliekamas per 24 valandas po mėginių surinkimo, pavyzdžiai turi būti laikomi 2...8°C temperatūroje; kitu atveju turi būti laikomi užšaldyti (nuo -20 iki -70°C temperatūroje). Jeigu mėginiai yra saugomi užšaldyti, prieš atliekant tyrimą, atšildyti mėginiai turi būti gerai sumaišomi. Neįanktyvoti serumo kaitinant ir vengti pakartotinio užšaldymo ir atšildymo.

### 7.1. Mėginių skiedimas

Prieš tiriant visi mėginiai turi būti praskiesti santykiu 1 + 100 su IgG mėginio skiedikliu. Išpilstyti 10μl mėginio ir 1 ml IgG mėginio skiediklio į mėgintuvėlius taip, kad būtų praskiesta santykiu 1 + 100 ir išmaišyti vartytuvu. Teigiamos ir neigiamos kontrolės yra paruoštos naudoti ir skiesti nebereikia.

## 8. TYRIMO ATLIKIMO METODIKA

### 8.1. Testo paruošimas

Perskaityti testo protokolą atidžiai, prieš atliekant testą. Rezultatų patikimumas priklauso nuo griežto testo protokolo laikymosi. Ši testo metodika yra taikoma tiksliai rankiniam testo atlikimui. Jeigu testas yra atliekamas ELISA automatinė sistema, rekomenduojama padidinti plovimų skaičių nuo trijų iki penkių ir plovimo tirpalo tūrį nuo 300μl iki 350μl, kad būtų išvengta plovimo efektų. Prieš vykdant testą, turi būti sudaromas pasiskirstymo ir identifikavimo planas visiems pavyzdžiams ir kontrolėms rezultatų lape, pateikiamame rinkinyje.

Rekomenduojama išdėstyti:

1 šulinėlis (pvz.: A1)	substratui,
1 šulinėlis (pvz.: B1)	neigiamai kontrolei,
2 šulinėlis (pvz.: C1+D1)	pabaigimo (cut-off) kontrolei ir
1 šulinėlis (pvz.: E1)	teigiamai kontrolei.

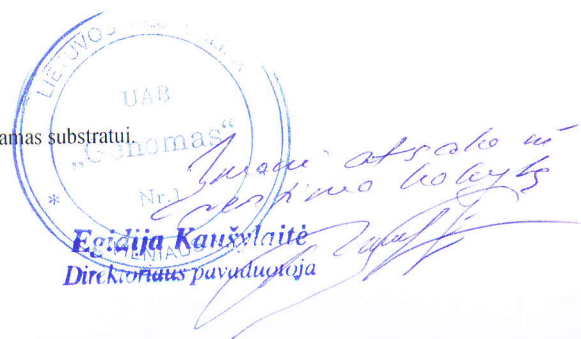
Rekomenduojama nustatyti kontroles ir pacientų mėginius du kartus, jeigu reikalinga.

Testas turi būti atliekamas taip, kaip nurodyta.

Kiekvienai kontrolei ir mėginiui turi būti naudojamas švarus, vienkartinis antgalis.

Termostatas turi būti nustatytas 37° ± 1°C.

1. Išpilstyti 100μl kontrolių ir praskiestų mėginių į atitinkamus šulinėlius. A1 paliekamas substratui.
2. Uždengti šulinėlius folija, esančia rinkinyje.



3. **Inkubuoti 1 valandą  $\pm$  5 min  $37\pm1^{\circ}\text{C}$  temperatūroje.**
4. Po inkubavimo, nuimti foliją, išsiurbti šulinėlių turinį ir plauti kiekvieną šulinėlį tris kartus 300 $\mu\text{l}$  plovimo tirpalo. Vengti išsiliejimo iš reakcijų šulinėlių. Susigėrimas tarp kiekvieno plovimo ciklo turėtų būti  $>5$  sec. Pabaigoje atsargiai popierine servetėle surinkti likusį skystį; prieš pereinant prie kito etapo!  
*Pastaba: Plovimas yra lemiamas! Nepakankamas plovimas sąlygoja menką tikslumą ir neteisingas absorbcijos vertes.*
5. Išpilstyti 100 $\mu\text{l}$  *Entamoeba histolytica* baltymo A konjugato į šulinėlius, išskyrus substrato šulinėlį (pvz.: A1). Uždengti folija.
6. **Inkubuoti 30 min kambario temperatūroje.** *Nepalikti tiesioginėje saulės šviesoje.*
7. Pakartoti 4 etapą.
8. Išpilstyti 100 $\mu\text{l}$  TMB substrato tirpalo į visus šulinėlius.
9. **Inkubuoti tiksliai 15 min kambario temperatūroje tamsoje.**
10. Išpilstyti 100 $\mu\text{l}$  Stop tirpalo į visus šulinėlius tokia pačia tvarka, kaip ir TMB substrato tirpalą.  
*Inkubavimo metu atsiradusi mėlyna spalva virsta geltona.*  
*Pastaba: Itin teigiami pacientų mėginiai gali sudaryti tamsiai chromogeno nuosėdas! Šios nuosėdos įtakoja optinio tankio nustatymą. Rekomenduojama praskiesti mėginį fiziologiniu natrio chlorido tirpalu, pavyzdžiui 1+1. Tuomet praskiesti mėginį 1+100 su IgG mėginio skiedikliu ir padauginti NTU iš.*
11. Išmatuoti pavyzdžių absorbciją 450/620 nm bangos ilgyje per 30 min nuo Stop tirpalo pridėjimo.

## 8.2. Matavimai

Nustatyti ELISA mikroplokštelių skaitytuvą į nulio padėtį, naudojant **substrato šulinėlį A1**.

*Jeigu – dėl techninių priežasčių - ELISA skaitytuvas negali būti nustatytas nulio padėtyje, naudojant substrato šulinėlį A1, atimkite substrato absorbcijos vertę iš visų kitų matuojamų absorbcijos verčių tam, kad būtų gauti patikimi rezultatai!*

**Išmatuoti absorbciją visuose šulinėliuose 450 nm bangos ilgyje ir pasiskirstymo ir identifikavimo plane įrašyti kiekvienos kontrolės ir kiekvieno paciento mėginio išmatuotas absorbcijos vertes.**

*Rekomenduojama naudoti taip pat ir 620 nm bangos ilgyje matavimus palyginimui.*

Kur įmanoma, apskaičiuoti visų duplikatų vidutinės absorbcijos vertes.



## 9. REZULTATAI

### 9.1. Vykdyto patvirtinimo kriterijai

Testas pripažįstamas galiojančiu, jeigu gaunamos tokios reikšmės:

▪ Substratas	A1:	Absorbcijos vertė žemesnė negu 0.100.
▪ Neigiama kontrolė	B1:	Absorbcijos vertė žemesnė negu 0.200.
▪ Pabaigimo (cut-off) kontrolė	C1 ir D1:	Absorbcijos vertė tarp 0.250 ir 0.900.
▪ Teigiama kontrolė	E1:	Absorbcijos vertė lygi arba didesnė nei pabaigimo kontrolės

### 9.2. Rezultatų skaičiavimas

Pabaigimo reikšmė yra pabaigimo kontrolių pamatuotų absorbcijos verčių vidurkis.

Pavyzdys: pabaigimo kontrolės absorbcijos vertė 0.42 + pabaigimo kontrolės absorbcijos vertė 0.44 = 0.86 / 2 = 0.43

Pabaigimo reikšmė (cut-off) = 0.43

### 9.3. Rezultatų interpretavimas

Mėginiai yra laikomi **TEIGIAMAIS**, jeigu absorbcijos vertė yra daugiau nei 10% didesnė už cut-off vertę.

Mėginiai, kurių absorbcijos vertė yra 10% didesnė arba mažesnė nei cut-off vertė, negali būti laikomi aiškiai teigiamais ar neigiamais

→ pilkoji zona

Rekomenduojama pakartoti testą dar kartą po 2 - 4 savaičių, paėmus šviežią mėginį. Jeigu pakartotinio testo rezultatai vėl yra pilkojoje zonoje, testas yra **NEIGIAMAS**.

Mėginiai yra laikomi **NEIGIAMAIS**, jeigu absorbcijos vertė yra daugiau nei 10% mažesnė nei cut-off vertė.

#### 9.3.1. Rezultatai NovaTec vienetais

Paciento (vidutinė) absorbcijos vertė x 10 = [NovaTec-Units = NTU]  
Cut-off

Pavyzdys:  $\frac{1.376 \times 10}{0.43} = 32$  NTU (NovaTec Units – NovaTec vienetai)

Cut-off:	10	NTU
Pilkoji zona:	9-11	NTU
Neigiamas:	<9	NTU
Teigiamas:	>11	NTU

## 10. SPECIFINĖS CHARAKTERISTIKOS

### 10.1. Tikslumas

Intertyrimas	n	Vidurkis	Cv (%)
Teig.serumas	6	0.604	3.9
Intratyrimas	n	Vidurkis	Cv (%)
Teig.serumas	7	0.609	2.1

### 10.2. Diagnostinis specifiškumas

Diagnostinis specifiškumas yra apibrėžiamas kaip tikimybė, kad tyrimas bus neigiamas, esant specifiškai analitei. Jis yra >95 %.

### 10.3. Diagnostinis jautrumas

Diagnostinis jautrumas yra apibrėžiamas kaip tikimybė, kad tyrimas bus teigiamas, esant specifiškai analitei. Jis yra >95 %.

### 10.4. Trukdžiai

Trikdžiai lipeminiame ar sergančio gelta serume nėra stebimi iki 5 mg/ml trigliceridų koncentracijos ir 0,2 mg/ml bilirubino koncentracijos. Hemoglobinas gali suteikti kryžminį reaktyvumą neigiamame serume.

**Pastaba:** Rezultatai yra pateikiami tirtoms grupėms; tai nėra garantinės specifikacijos.

## 11. TYRIMO APRIBOJIMAI

Bakterinis užkratas arba kartojami pavyzdžio užšaldymo, atšildymo ciklai gali įtakoti absorbcijos vertes. Infekcinės ligos diagnozė negali būti pateikta, remiantis vieno testo rezultatais. Tikslė diagnozė turi remtis klinikine anamneze, simptomais ir serologiniais duomenimis. Pacientų su pažeista imunine sistema ir naujagimių serologiniai duomenys yra labai riboti.

## 12. ĮSPĖJIMAI

- Atsižvelgiant į Europos direktyvos 98/79/EC 1 straipsnio paragrafą 2b diagnostinių medicininių *in vitro* įrenginių naudojimas yra skirtas gamintojams, kad būtų apsaugotas produkto panaudojimas ir funkcijos. Todėl turi būti griežtai laikomasi testo metodikos, informacijos, atsargumo priemonių ir įspėjimų, apibrėžtų naudojimo instrukcijose. Testo rinkiniai su analizatoriais ir panašia įranga turi būti patvirtinti. Bet koks konstrukcijos, sudėties ar metodikos pakeitimas, nesuderintas su gamintoju, negalioja; vartotojas yra pats atsakingas už tokius pakeitimus. Gamintojas nėra atsakingas už netikslius rezultatus ir dėl tokių priežasčių kilusius incidentus. Gamintojas nėra atsakingas už jokių vizualinės analizės pacientų rezultatus.
- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Visi žmogaus kilmės produktai, naudoti reagentų gamybai, buvo patikrinti dėl anti-ŽIV antikūnų, anti-HCV antikūnų ir HBsAg ir yra nereaktyvūs. Tačiau vis tiek su visomis medžiagomis reikia elgtis kaip su potencialiai infekcinėmis.

- Nesumaišyti skirtingos gamybos reagentų ar lazdelių.
- Nenaudoti kitų gamintojų reagentų kartu su šio testo rinkinio.
- **Nenaudoti reagentų, kurių galiojimo data yra pasibaigusi.**
- Naudoti tik švairius pipetų antgalius ir laboratorinę įrangą.
- Nesukeisti reagentų buteliukų dangtelių, kad būtų išvengta užkrėtimo.
- Reagentų buteliukus sandariai uždaryti iš karto panaudojus, kad būtų išvengta nugaravimo ir mikrobino užkrato.
- Pirmą kartą atidarius ir po ilgalaikio laikymo patikrinti konjugato ir kontrolių dangtelius dėl mikrobino užkrato.
- Tam, kad išvengtų kryžminio užkrato ir netikslių rezultatų pipette pilti medžiagas tiksliai į šulinėlių apačią.

PERSPĖJIMAS: Naudojama Bronidokso L koncentracija beveik neturi jokio toksikologinio poveikio odai ir gleivinei!

PERSPĖJIMAS: Sieros rūgštis dirgina akis ir odą. Laikyti vaikams nepasiekiamoje vietoje. Kontakto su akimis atveju, plauti vandeniu ir pasikonsultuoti su gydytoju!

### 12.1. Atliekų šalinimas

Chemikalų ir preparatų liekanos dažniausiai yra laikomos pavojingomis atliekomis. Tokių atliekų tvarkymas yra kontroliuojamas valstybinių ir regioninių įstatymų ir taisyklių. Susisiekite su vietine valdžia arba atliekų tvarkymo įmonėmis, kurios patars, kaip tvarkyti pavojingas atliekas.

## 13. LITERATŪRA

Patterson, M. et al. Serologic Testing of Amebiasis. Gastroenterology. 78:136, 1980

Healy, G. Laboratory Diagnosis of Amebiasis. Bull NY Acad Med. 47:478, 1971

Healy, G. Immunologic Tools in the Diagnosis of Amebiasis: Epidemiology in the united states. Rev Infect Diseases. Vol.8, 2:228, 1986

Walsh, J. Problems in Recognition and Diagnosis of Amebiasis: Estimation of the Global Magnitude of Morbidity and Mortality. Rev Infect Diseases. Vol.8, 2:228, 1986

## 14. UŽSAKYMŲ INFORMACIJA

Prod. Nr.: ENTG0140 *Entamoeba histolytica* IgG-ELISA (96 reakcijos)



# TYRIMO SISTEMA

*Entamoeba histolytica* IgG-ELISA

## Testo paruošimas

Paruošti reagentus ir mėginius kaip aprašyta.  
Sudaryti pasiskirstymo bei identifikavimo planą visiems pavyzdžiams ir kontrolėms rezultatų lape, pateikiamame rinkinyje.  
Surinkti reikalingą skaičių mikrotitravimo juostelių ar šulinėlių ir patalpinti stovelyje.

## Tyrimo atlikimas

	Substratas (pvz.: A1)	Neigiama kontrolė	Teigiama kontrolė	Pabaigimo kontrolė	Mėginys (skiedimas 1+100)
Neigiama kontrolė	-	100μl	-	-	-
Teigiama kontrolė	-	-	100μl	-	-
Pabaigimo ( <i>cut-off</i> ) kontrolė	-	-	-	100μl	-
Mėginys (skiedimas 1+100)	-	-	-	-	100μl
Uždengti šulinėlius folija, esančia rinkinyje <b>Inkubuoti 1 h 37°C temperatūroje</b> Plauti kiekvieną šulinėlį tris kartus 300μl plovimo tirpalo					
Konjugatas	-	100μl	100μl	100μl	100μl
Uždengti šulinėlius folija, esančia rinkinyje <b>Inkubuoti 30 min kambario temperatūroje</b> Plauti kiekvieną šulinėlį tris kartus 300μl plovimo tirpalo					
TMB substratas	100μl	100μl	100μl	100μl	100μl
<b>Inkubuoti tiksliai 15 min kambario temperatūroje tamsoje</b>					
Stop tirpalas	100μl	100μl	100μl	100μl	100μl
Fotometrinis matavimas 450 nm (standartinis bangos ilgis: 620 nm)					

**NovaTec Immundiagnostica GmbH**

**Technologie & Waldpark**

Waldstr. 23 A6

D-63128 Dietzenbach, Vokietija

Tel.: +49 (0) 6074-48760 Faks: +49 (0) 6074-487629

El.pašto adresas: [info@NovaTec-ID.com](mailto:info@NovaTec-ID.com)

Internetinis puslapis: [www.NovaTec-ID.com](http://www.NovaTec-ID.com)

ENTG0140engl20042005-SC

