

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРДИОЛИПИНА IgG

## 1491-11, Cardiolipin IgG

Каталог. № : 1491-11  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 02-10-2015



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

<b>Анализ</b>	<b>Cardiolipin IgG ELISA</b>
<b>Метод</b>	<b>Твердофазный иммуноферментный анализ</b>
<b>Принцип</b>	<b>ИФА - непрямой; Планшет, покрытый антигеном</b>
<b>Диапазон обнаружения</b>	<b>6.3-600 GPL</b>
<b>Образец</b>	<b>5 мкл сыворотки</b>
<b>Специфичность</b>	<b>100%</b>
<b>Чувствительность</b>	<b>60%</b>
<b>Общее время</b>	<b>~ 75 мин</b>
<b>Срок годности</b>	<b>12 месяцев</b>

### НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для обнаружения и полуколичественного определения IgG антител к кардиолипину в сыворотке или плазме человека. Анализ используется для определения антител в одном образце сыворотки. Результаты используются в целях диагностики анти-фосфолипидного синдрома у пациентов с аутоиммунным заболеванием.

### ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ И ОБЪЯСНЕНИЕ МЕТОДА

Аутоантитела кардиолипина (АСА) часто обнаруживают у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ), а также у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями и у некоторых людей, не страдавших ранее от основных заболеваний. Повышение уровня АСА связывают с наличием венозного и артериального тромбоза, тромбоцитопении и повторных выкидышей. Антифосфолипидный синдром использовался для описания пациентов, у которых наблюдались данные клинические проявления заболевания, в сочетании с АСА и волчаночным антикоагулянтом.

АСА встречается в иммуноглобулинах класса IgG, IgM и IgA. Определение антител IgM является важным показателем при диагностировании начинающейся аутоиммунной болезни, тогда как наличие антител IgG будет свидетельствовать о прогрессирующей стадии аутоиммунных расстройств. АСА IgG демонстрируют тесную взаимосвязь с клиническим состоянием пациента с тромбозом, тромбоцитопенией, выкидышем и некоторыми неврологическими расстройствами. АСА IgA часто ассоциируются с антителами IgG. АСА IgA проявляют большую достоверность при тромбозе и выкидыше.

Анализ на АСА разных изотипов ИФА-методом помогают при диагностировании антифосфолипидного синдрома у пациентов с СКВ и волчаночноподобными расстройствами.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Очищенные антигены кардиолипина наносятся на поверхность микролунок. Если присутствуют специфические антитела к антикардиолипину, они связываются с антигеном. Несвязанный материал вымывается. После добавления ферментного конъюгата он связывается с комплексом антитело-антиген. Избыток ферментного конъюгата вымывается, добавляется хромоген субстрат ТМБ. В определенное время каталитическая реакция фермент-конъюгат останавливается. Интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна количеству специфических антител в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются параллельно с калибраторами.

### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы можно хранить до 7 дней при 2-8 °С, или до полугода в замороженном виде. Избегайте многократных циклов замораживания/размораживания.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Микролуночные стрипы: лунки, покрытые антигеном кардиолипина: 12 × 8 лунок
2. Разбавитель образца: 1 бут, 50 мл, раствор желтого цвета.
3. Моющий буфер (20x концентрат): 1 бут, 50 мл.
4. Хромоген/Субстрат раствор: 1 бут, 12 мл, янтарный флакон
5. Ферментный конъюгат: 1 бут, 12 мл, раствор красного цвета.
6. Набор калибраторов (1:101 предварительно разбавленные) 5, 10, 20, 40, 80, 160 GPL. 1 мл/флакон
7. Набор контролей (1:101 предварительно разбавленные) Отрицательный и положительный контроли. Реагенты указаны на этикетках. 1 мл/флакон.
8. Стоп раствор: 1 бут, 12 мл.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ

1. Приготовление 1x моющего буфера  
Приготовьте промывочный буфер, разбавив 20x промывочный концентрат дистиллированной или / и неионизированной водой, чтоб получить в конечном итоге объем 1л.
2. Перед использованием привести все реагенты к комнатной температуре (20-25 °С) и слегка смешать.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Установите необходимое количество привитых стрипов в держатель. Предварительно промойте микропланшетные лунки – Повторите промывание три раза моющим буфером.
2. Приготовьте 1:101 разбавление тестового образца добавлением 5 мкл образца в 500 мкл разбавителя образцов. Тщательно смешайте.  
Не разбавляйте 1:101 предварительно разбавленные Калибраторы и Контроли.
3. В соответствующие лунки внести 100 мкл предварительно разбавленных образцов, калибраторов и контролей. Постучите по держателю, чтоб удалить воздушные пузырьки из жидкости и хорошо смешайте. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.
4. Удалите жидкость из лунок. Повторите промывание три раза моющим буфером.
5. Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую лунку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
6. Удалите ферментный конъюгат из лунок. Повторите промывание три раза моющим буфером.
7. Добавьте 100 мкл раствора хромоген/субстрата в каждую лунку и инкубируйте при комнатной температуре **15 минут**.
8. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора. Перед считыванием убедитесь, что в ячейках нет воздушных пузырьков.
9. Считайте ОП микропланшетным ридером при 450 нм.

### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Постройте стандартную кривую, откладывая ОП 450нм на оси y напротив концентрации калибратора GPL на оси x на специальной бумаге.
2. Используя значение ОП каждого образца, определите концентрацию из стандартной кривой.

### Типичный пример:

Calibrator Set	Cardiolipin IgG (GPL)	O.D. 450 nm	O.D. 450 nm Mean	SD	CV %
Calibrator 1	5	0.267	0.240	0.254	0.019 7.531
Calibrator 2	10	0.443	0.456	0.450	0.009 2.045
Calibrator 3	20	0.826	0.835	0.831	0.006 0.766
Calibrator 4	40	1.220	1.159	1.190	0.043 3.626
Calibrator 5	80	1.612	1.650	1.631	0.027 1.647
Calibrator 6	160	2.021	2.035	2.028	0.010 0.488

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Контроли должны использоваться при каждом тесте и концентрация должна отвечать диапазону, указанному на этикетке.
2. Средняя ОП для 0 GPL калибратора должна быть < 0,150, а средняя ОП для 160 GPL калибратора должна быть > 0,750.

**Дополнительные контроли можно приготовить из образцов человеческой сыворотки и хранить при -20 °С.**

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Негативный < 15 GPL  
Низко позитивный 15-30 GPL  
Средне позитивный 80 GPL  
Высоко позитивный > 30 GPL

## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

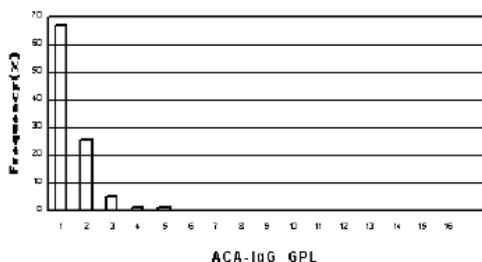
Повышенные уровни АСА, хоть и редко, но все же наблюдаются у обычного населения. Тем не менее, несколько аутоиммунных и инфекционных заболеваний могут стать результатом временного или хронического возрастания АСА.

Повышенные уровни АСА наблюдались при SLE, ревматоидном артрите, туберкулезе, синдроме Бецета и других болезнях.

Уровень нормальных значений АСА может меняться от населения к населению.

## Гистограмма

60 случайных нормальных образцов пациента определялись данным набором. Результаты полученных средних значений 1,4 GPL. SD=0,736.



## ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

### Чувствительность, специфичность и точность

72 образца из разных источников были проанализированы этим набором относительно коммерческого ELISA набора. В таблице в оригинале инструкции суммированы все данные.

Относительная чувствительность = 60%

Относительная специфичность = 100 %

Согласование = 75%

### Перекрестная реактивность

Проводилось изучение для определения перекрестной реактивности антител АСА этого набора и других антител. Не было найдено перекрестной реактивности против IgG позитивных образцов Рубеллы, CMV, HSV, EBV-VCA, Toxo, DS-DNA, Chlamidia trachomatis, ANA, Dengue and RF IgM.

### Точность

Таблицы смотрите в оригинале инструкции.

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Подобно другим серологическим анализам, результаты данного теста должны использоваться совместно с результатами иных диагностических процедур, принимая во внимание клиническую картину пациента в целом.
2. Хотя АСА ассоциировался с определенным множеством SLE, клиническая важность АСА и SLE и других болезней остается под исследованием.

## ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

- Потенциально опасные материалы:

Калибраторы и контроли содержат компоненты человеческого происхождения, которые тестировались реagenтами, лицензированными FDA, и оказались неактивными к поверхностному антигену гепатита В и антителам ВИЧ. Однако, ни один из известных методов **не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале.** Поэтому необходимо обращаться с данными reagenтами на уровне биологической безопасности 2, как рекомендуется Центром контроля заболеваний/Национальные Институты Здравоохранения, "Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях", 1984.

- Не пипетируйте ртом. Нельзя есть, пить и пользоваться косметикой в месте, где используются reagenты.
- Не смешивайте компоненты разных лотов и изготовителей.
- Некоторые reagenты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид может реагировать со свинцом и медью и формировать взрывоопасные вещества. При выбрасывании промойте большим количеством воды.
- Избегайте контакта с следующими reagenтами с кожей или слизистыми оболочками: ферментный конъюгат, субстрат ТМБ, стоп-раствор.

## ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8 °С.
2. После вскрытия пакета оставшиеся покрытые лунки необходимо немедленно поместить в запечатанный пакет с

осушителем. Рекомендуется использовать лунки на протяжении 30 дней.

3. Reagenты стабильны до окончания срока пригодности.
4. Все reagenты необходимо хранить и использовать вдали от света, тепла и солнца.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»

ул. Чорновола, 97

г. Ивано-Франковск, 76005

тел.: +38 (0342) 775 122

факс: +38 (0342) 775 123

e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)

[www.diameb.com](http://www.diameb.com)