



Набор для определения КАРДИОЛИПИНА IgG

Cardiolipin IgG EIA KIT

Кат. № : 113-1491
Количество : 96
Производитель : DAI (USA)

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

Методика 15-08-2005

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для обнаружения и полу количественного 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 в пациентов с аутоиммунным заболеванием.

Только для диагностики in vitro.

ПРИНЦИП МЕТОДА.

Данный тест является энзимно-связанным иммуносорбентным анализом для определения IgG, антител к антигенам кардиолипина.

Очищенные антигены кардиолипина добавлены к твердой фазе микрочаек анализа. Разбавленная сыворотка или плазма пациента и калибраторы добавляются в ячейки. Если присутствуют антитела, которые распознают антиген, формируется комплекс антиген – антитело. После инкубации ячейки промываются для удаления несвязанного антитела.

Если присутствует антитело, конъюгат связывается к антиген-антитело комплексу. После инкубации ячейки промываются для удаления несвязанного конъюгата. Добавляется в каждую ячейку субстрат раствор. Если присутствует энзим, субстрат изменяет окрас. Интенсивность цвета пропорциональна количеству специфических антител в образце.

Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются параллельно с калибраторами.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Все компоненты набора при хранении их при необходимых условиях стабильны до окончания срока пригодности. Не используйте после окончания срока пригодности.
2. Невскрытый микропланшет необходимо хранить при 2-8⁰С. Неиспользованные стрипы необходимо немедленно поместить в запечатанный пакет с осушителем и индикатор влаги и хранить при 2-8⁰С. Рекомендуется использовать ячейки на протяжении 30 дней
3. Все реагенты необходимо хранить и использовать вдали от света, тепла и солнца.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Образцы следует собрать асептической венепункцией и приготовить сыворотку, используя приемлемую технику.
2. Сыворотка может храниться до 7 дней при 2-8⁰С. До 6 месяцев - храните образцы замороженные при -20 - -70⁰С. Избегайте многократных циклов замораживания / размораживания.

РЕАГЕНТЫ И ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Планшетка** с привитым антигеном кардиолипина: 96 ячеек
2. **Разбавитель образца:** 1 бут, 50 мл. раствор желтого цвета.
3. **Моющий буфер** (10х концентрат): 1 бут., 100 мл.
4. **Хромоген/Субстрат раствор:** 1бут., 15 мл. Содержит ТМВ., янтарный флакон
5. **Ферментный конъюгат:** 1бут., 12 мл.,раствор красного цвета.
6. **Набор калибраторов** (1:101 предварительно разбавленные) 6,3, 12,5, 25, 50, 100, 200 GPL.
7. **Набор калибраторов** (1:101 предварительно разбавленные) Отрицательный и положительный контроли. Реагенты указаны на этикетках. 1,5 мл/флакон.
8. **Стоп раствор:** 1 бут, 12 мл. Содержит раствор кислоты

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

- Обращайтесь с реагентами и образцами как с потенциально инфицированными.
- Калибраторы и контроли содержат материалы человеческого происхождения, которые были протестированы и найдены как нереактивные на присутствие Гепатита В поверхностного антигена и антител на HIV. Тем не менее никакой тест не может гарантировать полное отсутствие этих вирусов, равно как и других вирусов.
- Не пипетируйте ртом. Избегайте контакта реагентов и образцов пациентов с кожей и слизистыми. Нельзя есть, пить и пользоваться косметикой в месте, где используются реагенты.
- Не смешивайте компоненты разных лотов и изготовителей.
- Некоторые реагенты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид может реагировать со свинцом и медью и формировать взрывоопасные вещества. При попадании, промойте большим количеством воды.
- Избегайте контакта с реагентами.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

1. Приготовление 1х моющего буфера
Разбавьте 10х моющий буфер к окончательному объему 1 л дистиллированной или /и неионизированной водой.
2. Все реагенты следует вынуть из рефрижератора и привести к комнатной температуре перед использованием (21-25⁰С).

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 разбавленных Калибраторов и Контролей.

3. В ячейки внести 100 мкл предварительно разбавленных образцов, калибраторов и контролей. Постучите по держателю, чтобы избежать образования воздушных пузырьков и хорошего смешения. Инкубировать при комнатной температуре (21-25°C) **30 минут**.
4. Удалите жидкость с ячеек. Повторите промывание три раза моющим буфером.
5. Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую ячейку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
6. Удалите ферментный конъюгат с ячеек. Повторите промывание три раза моющим буфером.
7. Добавьте 100 мкл раствора хромоген / субстрата в каждую ячейку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
8. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора. Перед считыванием убедитесь что в ячейках нету воздушных пузырьков.
9. Результаты необходимо считать ELISA планшетным 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.
3. Типичный пример см в оригинале инструкции.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Контроли должны использоваться при каждом тесте и концентрация должна отвечать той, что на этикетке.
2. Средняя ОП для 0 GPL калибратора должна быть < 0,150, а средняя ОП для 200 GPL калибратора должна быть >0,750.

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

ИНТЕРПРИТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Негативный < 10 GPL

Низко позитивный 10-19 GPL

Средне позитивный 20-79 GPL

Высоко позитивный > 80 GPL

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Повышенные уровни АСА – случайные, хотя редко наблюдаются в обычного населения. Тем не менее, несколько аутоиммунных и инфекционных заболеваний могут стать результатом временного или хронического возрастания АСА.

Повышенные уровни АСА репортировались в SLA, ревматоидном артрите, туберкулезе, синдроме Бецета и другие болезни.

Уровень нормальных значений АСА может меняться от популяции к популяции.

Гистограмма

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

См в оригинале инструкции гистограмму 60 образцов.

ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. Результаты не должны интерпретироваться как диагностические. Результаты должны

использоваться в целях диагноза. Результаты должны интерпретироваться согласно клинической картине пациента в целом.

2. Хотя АСА ассоциировался с определенным множеством SLE, клиническая важность АСА и SLE и других болезней остается под исследованием.

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

Таблички смотрите в оригинале инструкции.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»

ул. Чорновола 97, г. Ивано-Франковск, 76005

тел.: (0342) 775 122 , факс: (0342) 775612

e-mail: info@diameb.com

www.diameb.com