

НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИЯДЕРНИХ АНТИТІЛ ANA-8, ПРОФІЛЬ

3101, Aeskulisa ANA-8Pro

Кат. № : 3101

Кількість : 96

Виробник : AESKU. Diagnostics,
(Німеччина)

Методика від 28-08-2007

Версія 002



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

1. Призначення

AESKULISA ANA-8Pro являє собою твердофазний імуноферментний аналіз для роздільного якісного визначення IgG антитіл до восьми клітинних і ядерних антигенів у сироватці крові людини. Лунки окремо покриті рекомбінантними U1 snRNP (70 кДа), SS-B, SS-A (52 кДа), Scl 70, центромером білка B (CenPB), Jo-1 і високо очищений нативний людський snRNP/Sm, Sm і SS-A (60 кДа).

Аналіз є інструментом в диференціальній діагностиці системних ревматичних захворювань.

2. Клінічне застосування і принцип аналізу (Див. оригінал інструкції).

Принцип тесту

Зразки сироватки, розбавлені 1:101, інкубують в Мікропланшетах з внесенням конкретного антигена. Антитіла пацієнта, якщо вони присутні в зразку, зв'язуються з антигеном. Незв'язана фракція вимивається на наступній стадії. Потім анти-людські імуноглобуліни, кон'юговані з Пероксидазою хрому (кон'югат), інкубують і відбувається реакція з комплексом антиген-антитіло в зразках в Мікропланшетах. Незв'язаний кон'югат вимивається на наступній стадії. Додавання ТМВ субстрату генерує ферментативну колориметричну (синій колір) реакцію, яка зупиняється розведеною кислотою (колір змінюється на жовтий). Швидкість утворення кольору від хромогену є функцією кількості кон'югату, пов'язаного з комплексом антиген-антитіло, і вона пропорційна початковій концентрації відповідних антитіл у зразку пацієнта.

3. Комплект поставки

Мають бути відновлені:

5x Буфер для зразків 1 флакон, 20 мл - 5x концентрований (білий ковпачок: жовтий розчин)
Містить: Тріс, NaCl, BSA, азид натрію <0,1% (консервант)

50x Промивний буфер 1 флакон, 20 мл - 50x концентрований (білий ковпачок: зелений розчин)
Містить: Тріс, NaCl, Твін 20, азид натрію <0,1% (консервант)

Готові до використання:

Негативний Контроль 2 флакона, 1,8 мл кожен (зелений ковпачок: безколірний розчин)
Містить: людську сироватку (розведену), азид натрію <0,1% (консервант)

Калібратор Cut-off 2 флакона, 1,8 мл кожен (синій ковпачок: жовтий розчин)
Містить: людську сироватку (розведену), азид натрію <0,1% (консервант)

Кон'югат 1 флакон, 15 мл IgG (синій ковпачок: синій розчин)
Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрому

Субстрат ТМБ 1 флакон, 15 мл (чорний ковпачок)

Стоп Розчин 1 флакон, 15 мл (білий ковпачок: безбарвний розчин)
Містить: 1 М соляної кислоти

Мікропланшет 12 x 8-лункових смужок, які відокремлюються
Покриття див. пункт 1

Необхідні матеріали, що не постачаються:

Планшетний рідер з фільтром 450 нм і опційним референтним фільтром 620 нм (600-690 нм). Скляний посуд (циліндр 100-1000 мл), пробірки для розведення. Вортекс, піпетки прецизійні (10, 100, 200, 500, 1000 мкл) або регульована мультипіпетка (100-1000 мл). Мікропланшетний Пристрій для промивки (300 мкл повторювання або багатоканальна піпетка або автоматизована система), адсорбуючий папір.

Наші тести призначені для використання з очищеною водою відповідно до визначення Фармакопеї США (USP 26 – NF 21) та Європейської Фармакопеї (Eur.Ph. 4-е вид).

4. Зберігання та термін придатності

Зберігати всі реагенти і Мікропланшет при температурі 2-8 °C/35-46 °F, в оригінальній упаковці. Готові, відновлені розчини стабільні протягом 1 місяця при температурі +4 °C/39 °F, як мінімум. **Реагенти і Мікропланшет повинні використовуватися тільки в межах терміну придатності, зазначеного на кожному компоненті. Уникайте інтенсивного впливу світла на ТМВ розчин. Зберігайте Мікропланшети в призначеній для цього фользі, в тому числі з осушувачем, і щільно закривайте.**

5. Заходи безпеки використання

5.1 Небезпека для здоров'я

Цей продукт призначений тільки ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO. Таким чином, тільки персонал, навчений і спеціально інформований щодо методів діагностики в пробірці, може проводити аналіз. Хоча цей продукт не вважається особливо токсичним або небезпечним в умовах нормального використання, притримуйтеся наступних заходів для максимальної безпеки:

Рекомендації та заходи безпеки

Цей комплект містить потенційно небезпечні компоненти. Хоча реагенти не класифіковані як подразник для очей і шкіри, ми рекомендуємо уникнути контакту з очима та шкірою і носити одноразові рукавички. УВАГА! Калібратори, Контролі та Буфери містять азид натрію (NaN₃) як консервант. NaN₃ може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN₃ може реагувати зі свинцем і міддю і формувати вибухонебезпечні азиди металів. При знищенні, змити з великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азидів. Будь ласка, зверніться до процедур дезактивації, як це викладено CDC або до інших місцевих/національних керівних принципів.

Не паліть, не їжте і не пийте при роботі з набором.

Не піпетувати ротом.

Весь вихідний людський матеріал, що використовується для деяких реагентів цього набору (контролі, стандарти, наприклад) був протестований схваленими методами, і був негативним до HbsAg, гепатиту С та ВІЛ 1. Проте, жоден тест не може гарантувати відсутність вірусних агентів у таких матеріалах повністю. Таким чином, поводитись з контролями, стандартами і зразками пацієнтів як з потенційним джерелом інфекційних захворювань і відповідно до національних вимог.

5.2 Загальні зауваження щодо використання

Не змішуйте і не замінюйте реагенти або Мікропланшети з різних лотів. Це може привести до змін в результатах.

Привести всі компоненти до кімнатної температури (20-32 °C/68-89.6 °F) перед використанням, добре перемішати і дотримуватись рекомендованої інкубаційної схеми для оптимального виконання тесту.

Інкубація: Ми рекомендуємо проводити тест при 30 °C/86 °F для автоматизованих систем.

Ніколи не піддавайте компоненти більш високій температурі, ніж 37 °C/98.6 °F.

Завжди проводити піпетування розчину субстрату тільки з новими наконечниками. Захищати цей реагент від світла. Ніколи не піпетувати кон'югат з наконечниками, які використовувались з іншими реагентами до цього.

6. Відбір проб, Використання та зберігання

Використовуйте переважно зібрані нещодавно зразки сироватки. Забір крові повинен проводитись відповідно до державних вимог.

Не використовуйте іктеричні, ліпемічні, гемолізовані або бактеріально забруднені зразки. Сироватка з частками повинна бути очищена центрифугуванням з низькою швидкістю (<1000 x g). Зразки крові повинні бути зібрані в чисті, сухі і порожні пробірки. Після сепарації, зразки сироватки слід використовувати відразу, зберігати щільно закритими при температурі 2-8 °C/35-46 °F до трьох днів і замороженими при -20 °C/-4 °F для більш тривалих періодів.

7. Процедура аналізу

7.1 Підготовчі заходи перед піпетуванням

Розвести концентровані реагенти:

Розвести концентрований буфер для взірців 1:5 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 80 мл).

Розвести концентрований Промивний буфер 1:50 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 980 мл).

Зразки:

Розвести зразки сироватки 1:101 буфером для зразка (1x)

Наприклад, 1000 мкл буфера для зразків (1x) + 10 мкл сироватки. Добре перемішати!

Промивання:

Підготувати 20 мл розведеного промивного буфера (1x) на 8 лунок або 200 мл на 96 лунок

Наприклад, 4 мл концентрату плюс 196 мл дистильованої води.

Автоматизоване промивання:

Врахувати надлишкові обсяги, необхідні для налаштування приладу, і мертві обсяги для автоматизованого піпетування.

Ручне промивання:

Видалити рідини з лунок перекиданням планшета. Постукати рамкою з мікролунками енергійно на чистий адсорбуючий папір. Внести 300 мкл розведеного промивного буфера в кожну лунку, почекати 20 секунд. Повторити всю процедуру ще два рази.

Мікропланшети:

Розрахуйте кількість лунок, необхідних для випробування. Видалити зайві лунки з рами, помістити в пакет і зберігати разом з осушувачем, (2-8 °C/35-46 °F).

7.2 Проведення тестування

Схема піпетування: див. Додаток А, процедура випробування: див. Додаток В

Ми рекомендуємо піпетування зразків і калібраторів у двох примірниках.

Cut-off Калібратор повинен використовуватися тільки для якісного визначення.

- Внесіть 100 мкл розведеної сироватки кожного пацієнта в призначені лунки.
- Внесіть 100 мкл Негативного контролю і калібратора Cut-off в призначені лунки.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
- Вимийте 3x з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
- Внесіть 100 мкл кон'югату в кожну лунку.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
- Вимийте 3x з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
- Внесіть 100 мкл ТМБ субстрат в кожну лунку.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищеному від інтенсивного світла.
- Внесіть 100 мкл стоп розчину в кожну лунку, використовуючи той же порядок, як при піпетуванні субстрату.
- Інкубуйте 5 хвилин мінімум.
- Агітувати пластину ретельно протягом 5 сек.
- Зчитати абсорбцію при 450 нм (опційно 450/620 нм) протягом 30 хвилин.

8. Якісна Інтерпретація

Зчитати оптичну щільність Cut-off калібратора і зразків пацієнтів. Помножити ОЩ Cut-off калібратора на коефіцієнт, специфічний для параметра, який зазначений у сертифікаті контролю якості. Порівняйте ОЩ пацієнтів з розрахунковим значенням ОЩ Cut-off. Для якісної інтерпретації ми рекомендуємо розглянути сироватки в межах 20% навколо значення Cut-off, як неоднозначні. Всі зразки з більш високим значенням ОЩ вважаються позитивними, зразки з більш низьким значенням ОЩ вважаються негативними.

ANA-8Pro	OD 450/620 нм
Негативний контроль	0.033
Калібратор Cut-off	0.550

Приклад інтерпретації

Ми рекомендуємо піпетування калібраторів паралельно для кожного запуску.

QC-	Jo-1 Коефіцієнт:	0.95
Сертифікат:	OD Cut-off Калібратор (Jo-1):	0.550
Отримане:	1):	0.550 x 0.95 =
Розраховане:	OD Cut-off Параметр (Jo-1):	0.5225

Негативний: OD пацієнта < 0.8 x OD Cut-off Параметр = 0.8 x 0.5225 = **0.418**

Позитивний: OD пацієнта > 1.2 x OD Cut-off Параметр = 1.2 x 0.5225 = **0.627**

Сумнівний: **0.418** ≤ OD пацієнта ≤ **0.627**

№ ID	Зразок	Розрахунок OD	Інтерпретація
	OD Jo-1		
1	0.99	> 0.627	Позитивний
2	0.49	≥ 0.418 і ≤ 0.627	Сумнівний
3	0.27	< 0.418	Негативний

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів!

Дані, характерні для конкретного лоту, знаходяться в листі контролю якості. Медичні лабораторії можуть проводити свій Контроль Якості використовуючи власні контроли і/або внутрішній пул сироваток, як це передбачено нормами ЄС.

Для **напівкількісного** визначення результатів кожне значення ОЩ пацієнта може бути виражене за допомогою індексу. Індекс обчислюється шляхом ділення значення ОЩ пацієнтів на ОЩ Cut-off:

Значення індексу = OD (зразок пацієнта) / OD (Cut-off параметр)

Негативний: OD пацієнта < 0.8

Сумнівний: 0.8 ≤ OD пацієнта ≤ 1.2

Позитивний: OD пацієнта > 1.2

9. Технічні дані

Матеріал зразка: сироватка

Об'єм зразка: 10 мкл зразка, розведеного 1:101 в 1x буфері для зразків

Загальний час інкубації: 90 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F

Зберігання: при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони

Кількість визначень: 96 тестів

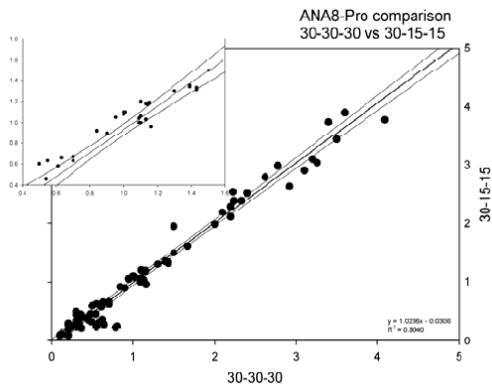
10. Дані продуктивності

10.1 Специфічність і чутливість

Мікропланшет покритий високоочищеними та/або рекомбінантними антигенами (70 кДа U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Sm, Scl-70, Jo-1, СenрВ). Перехресної реактивності з іншими аутоантигенами не було виявлено. ANA не є специфічними до SLE, але виявляються в різних ревматичних захворюваннях. Виявлення ANA є дуже чутливим маркером для активного SLE і є позитивним в > 99% випадків. Дані вивчалися з AESKULISA ANA-8 Pro (REF 7101).

Кореляція:

Сумісність даних по продуктивності оцінювали з 80 сироватками, які тестувалися на обох, AESKULISA 7101 і AESKULISA 3101. Лінійний регресійний аналіз двох продуктів показав, що два продукти еквівалентні. 36 з цих сироваток близькі до значень cut-off.



10.2 Лінійність

Обрані сироватки тестувались з цим набором і було встановлено лінійність розведення. Тим не менше, через неоднорідність характеру людських аутоантитіл можуть існувати зразки, що не підлягають цьому правилу.

№ Зразка	Фактор розведення	Виміряна концентрація (співвідношення OD)	Очікувана концентрація (співвідношення OD)	Відновлення (%)
1	1/100	6.1	6.1	100.0
	1/200	3.1	3.05	101.6
	1/400	1.49	1.53	97.3
	1/800	0.71	0.76	93.4
2	1/100	3.2	3.4	94.1
	1/200	1.6	1.7	94.1
	1/400	0.81	0.85	95.3
	1/800	0.41	0.43	95.4

10.3 Точність

Для визначення точності аналізу, мінливість (всередині і між серіями) оцінювали шляхом аналізу його відтворюваності на трьох відібраних зразках сироватки, щоб представити діапазон в порівнянні зі стандартною кривою.

Intra-Assay		
ANA-8Pro	Mean OD Ratio	CV (%)
U1RNP	3.1	0.8
Sn/RNP	2.1	0.4
Sm	1.8	1.0
SSA	3.5	1.2
SSB	2.8	1.0
Scl-70	1.2	1.5
CenpB	1.5	1.1
Jo-1	1.0	1.2

Inter-Assay		
ANA-8Pro	Mean OD Ratio	CV (%)
U1RNP	3.2	0.8
Sn/RNP	4.2	1.0
Sm	4.1	1.1
SSA	3.9	0.9
SSB	1.5	0.7
Scl-70	1.4	1.9
CenpB	2.5	1.2
Jo-1	2.4	0.8

10.4 Калібрування

AESKULISA ANA-8 Pro відкалібрований відносно контрольних сироваток від CDC (Центр Контролю та профілактики хвороб) Atlanta.

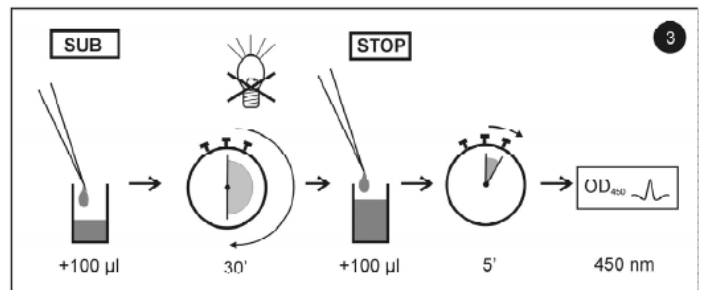
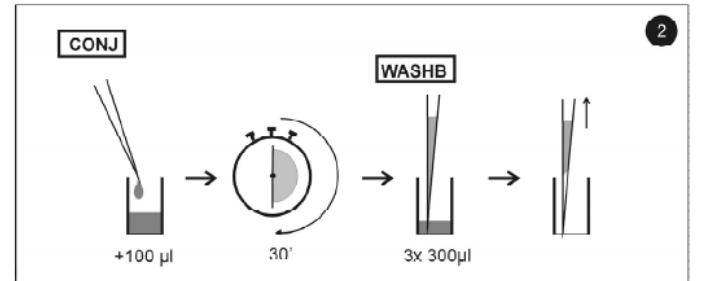
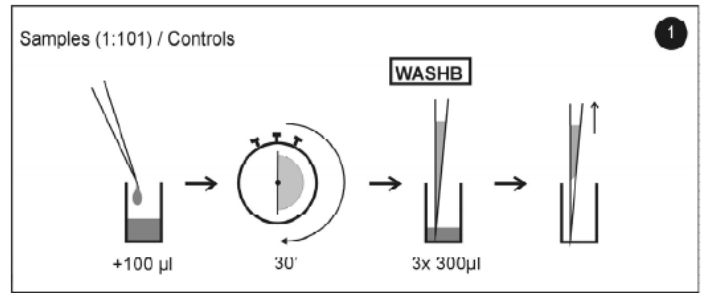
ДОДАТОК А: Схема піпетування

Ми пропонуємо піпетування калібраторів, контролів і зразків наступним чином:

Antigen		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
U1-RNP	A	CC	NC	P1	P2	P3	...						
snRNP/Sm	B	CC	NC	P1	P2	P3	...						
Sm	C	CC	NC	P1	P2	P3	...						
SS-A	D	CC	NC	P1	P2	P3	...						
SS-B	E	CC	NC	P1	P2	P3	...						
Scl-70	F	CC	NC	P1	P2	P3	...						
CenpB	G	CC	NC	P1	P2	P3	...						
Jo-1	H	CC	NC	P1	P2	P3	...						

CC: Калібратор Cut-off
 NC: негативний контроль
 P1: пацієнт 1
 P2: пацієнт 2
 P3: пацієнт 3

Додаток В: Процедура випробування



Пояснення символів, що використовуються на маркуванні:

IVD	Медицинський виріб для діагностики <i>in vitro</i>
REF	Каталоговий номер
LOT	Код партії
CE	СЕ маркування
	Національний знак відповідності
96	96 тестів
	Ознайомлення з інструкціями для застосування
	Використати до
	Температурні обмеження (2-8 °C)
	Виробник
CO-CAL	Калібратор Cut-off
CON+	Позитивний контроль
CON-	Негативний контроль
CAL	Калібратор
RC	Відновлювач
CONJ	Кон'югат
MP	Мікропланшет
PINP	Планшет
WASHB 50x	Промивний буфер
SUB	Субстрат
STOP	Стоп розчин
SB 5x	Буфер для зразків



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co.KG
Mikroforum Ring 2, 55234 Wendelsheim, Germany
Phone: +49-6734-9622-0
FAX: +49-6734-9622-2222
WWW.AESKU.COM



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

