



кон'югат з наконечниками, які використовувались з іншими реагентами до цього.

**Певний клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах проведеного тесту, але має бути зроблений лікарем після оцінки всіх клінічних та лабораторних досліджень. Діагноз повинен бути перевірений з використанням різних методів діагностики.**

### 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 частинками 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 на протязі перших 8 годин, зберігати щільно закритими при температурі 2-8 °C/35-46 °F до 48 годин або замороженими при -20 °C/-4 °F для більш тривалих періодів.

### 7 Процедура аналізу

#### 7.1 Підготовчі заходи перед початком роботи

Розвести концентровані реагенти:

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

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

Щоб уникнути помилок ми пропонуємо позначити ковпачки різних калібраторів.

#### 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 кожен лунку, почекати 20 секунд. Повторити всю процедуру ще два рази.

#### Мікропланшети:

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

### 7.2 Схема Піпетування

Ми пропонуємо піпетувати калібратори, контролю і зразки таким чином:



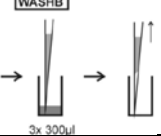






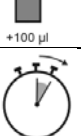
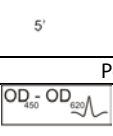
	1	2	3	4...
A	NC	P2		
B	NC	P2		
C	CC	P3		
D	CC	P3		
E	PC	...		
F	PC	...		
G	P1	...		
H	P1	...		

PC: позитивний контроль  
NC: негативний контроль  
CC: cut-off калібратор

P1: пацієнт 1  
P2: пацієнт 2  
P3: пацієнт 3

### 7.3 Проведення тестування

Крок	Опис
1.	Переконайтеся, що підготовка відповідно до пункту 7.1 вище була проведена перед піпетуванням.
2.	Використовуйте наступні кроки для отримання необхідних кількісних/якісних результатів:
<b>КОНТРОЛІ І ЗРАЗКИ</b>	
3.	Внести в зазначені лунки, як описано в розділі 7.2

		вище, 100 мкл кожного: Cut-off калібратора (CC) і 100 мкл кожного з наступних: • Негативного контролю (NC) і Позитивного контролю (PC), і • Розведеної сироватки пацієнта (P1, P2 ...)
4.		Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
5.		Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
<b>КОН'ЮГАТ</b>		
6.		Внести 100 мкл кон'югату в кожен лунку.
7.		Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
8.		Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
<b>СУБСТРАТ</b>		
9.		Внести 100 мкл ТМБ субстрату в кожен лунку.
10.		Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищений від інтенсивного світла.
<b>СТОП РОЗЧИН</b>		
11.		Внести 100 мкл стоп-розчину в кожен лунку, використовуючи той же порядок, що і при піпетуванні субстрату.
12.		Витримати 5 хвилин мінімум.
13.		Ретельно струшувати пластину протягом 5 сек.
14.		Виміряти оптичну щільність при 450 нм (рекомендується 450/620 нм) протягом 30 хвилин.

### 8 Напівкількісна Інтерпретація

Зчитати оптичну щільність Cut-off калібратора і зразків пацієнтів. Порівняйте OD пацієнтів з OD Cut-off калібратора. Ми рекомендуємо розглядати сироватки в діапазоні 20% навколо порогового значення, як двозначні. Всі зразки з більш високим OD вважаються позитивними, зразки з більш низькими OD вважаються негативними.

**Негативний:** OD пацієнта < 0.8 x OD Cut-off

**Сумнівний:** 0.8 x OD Cut-off ≤ OD пацієнта ≤ 1.2 x OD Cut-off

**Позитивний:** OD пацієнта > 1.2 x OD Cut-off

Калібратори	O.D. 450/620 нм	CV % (варіація)
Негативний контроль	0.081	2.6
Cut-off калібратор	0.350	1.8
Позитивний контроль	1.259	0.7

### Приклад інтерпретації

Ми рекомендуємо піпетувати Cut-off калібратор паралельно для кожного запуску.

Cut-off калібратор	Зразок пацієнта	OD Коефіцієнт	Інтерпретація
0.35 OD	0.25 OD	0.75	Негативний
0.35 OD	0.40 OD	1.14	Сумнівний
0.35 OD	0.56 OD	1.60	Позитивний
0.35 OD	1.75 OD	5.00	Позитивний

**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 контролю і/або внутрішній пул сироваток, як це передбачено як це передбачено національними правилами.

Кожна лабораторія повинна встановити свої межі нормальних значень, ґрунтуючись на власних методах, контролях, обладнанні і популяції пацієнтів у відповідності зі своїми встановленими процедурами.

У випадку, коли значення контролів не відповідають критеріям, тест є недійсним і повинен бути повторений.

Наступні технічні дані повинні бути перевірені: термін придатності (приготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, прилади, фотометр, умови інкубації і методи промивки.

Якщо протестовані зразки показують значення, які відхиляються від встановлених, або критерії перевірки не виконуються без вагомих причин, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тест-набору.

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 калібратор)**

**Негативний:** Значення Індексу < 0.8  
**Сумнівний:** 0.8 ≤ Значення Індексу ≤ 1.2  
**Позитивний:** Значення Індексу > 1.2

### 9 Технічні дані

Матеріал зразка: сироватка  
 Об'єм зразка: 10 мкл зразка, розведеного 1:101 в 1х 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 Робочі характеристики

#### 10.1 Специфічність і чутливість

Мікропланшет покритий лізованими HEp2 клітинами. Перехресної реактивності з іншими аутоантигенами не було виявлено (TTG, PR3, TPO, TG, гліадин). ANA не є специфічними для SLE, але знаходяться в різних ревматичних захворюваннях. Виявлення ANA є дуже чутливим маркером для активного SLE і є позитивним в > 99% випадків.

57 характерних сироваток пацієнтів, які страждають від різних аутоімунних (AI) захворювань (ВКВ, MCTD, CREST і синдром Sjögrens; див. таблицю нижче), отриманих з великих лікарень, які були позитивними на IFA HEp-2 ANA (≥ 1:160) були протестовані на заявленому пристрої і AESKULISA ANA-HEp-2. 2 сироватки, які були негативними в IFA, також були негативними з AESKULISA ANA-HEp-2. Спостерігалось 100% узгодження з заявленим пристроєм.

Захворювання	Кількість сироваток, що тестувалися
SLE	39
MCTD	3
CREST	4
Синдром Sjogrens	4
Інші AI захворювання	7

		Заявлений пристрій		
		Позит.	Негат.	Разом
AESKULISA ANA-HEp-2	Позит.	57	0	57
	Негат.	0	2	2
		57	2	59

В контрольній групі (n = 80) всі виявилися негативними на AESKULISA ANA-HEp-2.

### 10.2 Лінійність

Обрані сироватки тестувалися 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	4.10	4.200	97.6
	1/200	2.10	2.100	100.0
	1/400	1.00	1.050	95.2
	1/800	0.55	0.530	103.8
2	1/100	6.10	6.200	98.4
	1/200	3.00	3.100	96.8
	1/400	1.59	1.550	102.6
	1/800	0.79	0.775	102.0

### 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		
Sample No.	Mean (OD-Ratio)	CV (%)
1	4.6	1.5
2	2.8	2.0
3	1.4	1.8

Inter-assay		
Sample No.	Mean (OD-Ratio)	CV (%)
1	4.7	3.1
2	3.0	2.5
3	1.2	2.4

### 10.4 Калібрування

AESKULISA ANA-HEp-2 калібрується проти контрольних сироваток від CDC (Центр по контролю і профілактиці захворювань) в Атланті.

### Пояснення символів, що використовуються на маркуванні:

	Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i>
	Каталоговий номер
	Код партії
	СЕ маркування
	Національний знак відповідності
	96 тестів
	Ознайомлення з інструкціями для застосування
	Використати до
	Температурні обмеження (2-8 °C)
	Виробник
	Калібратор Cut-off
	Позитивний контроль
	Негативний контроль
	Калібратор
	Відновлювач
	Кон'югат
	Мікропланшет
	Планшет
	Промивний буфер
	Субстрат
	Стоп розчин
	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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)

