

## НАБІР ІФА

# ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО ФОСФОЛІПІДІВ-8, GM, ПРОФІЛЬ

## 3232, Aeskulisa Phospholipid-8PRO-GM

Кат. № : 3232  
Кількість : 96  
Виробник : AESKU. Diagnostics,  
(Німеччина)

Методика від 10-08-2016  
Версія 004



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 Phospholipid-8PRO-GM** є твердофазним імуоферментним аналізом для роздільного якісного визначення IgG та/або IgM антитіл проти фосфоліпідів в сироватці крові людини. Аналіз використовує високо очищені людські  $\beta$ 2-глікопротеїн I, Кардіоліпін +  $\beta$ 2 Глікопротеїн I, Кардіоліпін і Фосфатидилхолін, -етаноламін, -інозитол, -серин і Сфингомієлін.

Аналіз є допомогою в діагностиці та оцінці ризику тромбозу у пацієнтів на системний червоний вовчак.

### 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				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Буфер для зразків (5x)	1 x 20 мл	Білий	Жовтий	5 x концентрований Тріс, NaCl, BSA, азид натрію < 0.1% (консервант)
Промивний буфер (50x)	1 x 20 мл	Білий	Зелений	50 x концентрований Тріс, NaCl, Твін 20, азид натрію < 0.1% (консервант)
ГОТОВІ ДО ВИКОРИСТАННЯ				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Негативний Контроль	1 x 1.8 мл	Зелений	Безколірний	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (БСА), азид натрію < 0.1% (консервант)
Калібратор Cut-off	8 x 1.5 мл	Білий	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (БСА), азид натрію < 0.1% (консервант)
Кон'югат, IgG IgM	1 x 15 мл 1 x 15 мл	Синій Зелений	Синій Зелений	Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрому, бичачий сироватковий альбумін (БСА)
Субстрат ТМВ	1 x 15 мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований ТМВ/Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub>
Стоп Розчин	1 x 15 мл	Білий	Безколірний	1 М соляної кислоти
Мікропланшет	12 x 8- лункових	--	--	смужки, які відокремлюються

смужок	Покриття див. пункт 1
* Колір збільшується з концентрацією	
<b>НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ</b>	
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 2-8 °C/35-46 °F. 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 (NaN<sub>3</sub>) як консервант. NaN<sub>3</sub> може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN<sub>3</sub> 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 їте 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 надавайте 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.

**Певний клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах тільки 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 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 48 годин 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 зрізів 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 запобігти помилкам ми рекомендуємо маркувати 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 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 Схема Піпетування


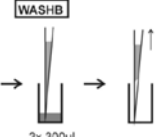
Ми пропонуємо піпетувати калібратори, контролі і зразки таким чином:



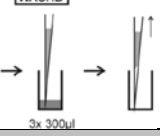


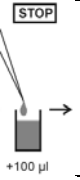

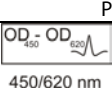
Таблицю див. оригінал інструкції.

NC: негативний контроль  
ССА-CCN: cut-off калібратори

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.	<p>Внести в зазначені лунки, як описано в розділі 7.2 вище, 100 мкл:</p> <p>а. Cut-off калібратора (CC) для <b>ЯКІСНОЇ</b> інтерпретації і 100 мкл кожного з наступних:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Негативного контролю (NC) і</li> <li>Розведеної сироватки пацієнта (P1, P2 ...)</li> </ul>
4.	 <p>Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.</p>
5.	 <p>Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).</p>
<b>КОН'ЮГАТ</b>	

6.	 <p>Внести 100 мкл кон'югату в кожну лунку.</p>
7.	 <p>Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.</p>
8.	 <p>Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).</p>
<b>СУБСТРАТ</b>	
9.	 <p>Внести 100 мкл ТМБ субстрату в кожну лунку.</p>
10.	 <p>Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищений від інтенсивного світла.</p>
<b>СТОП РОЗЧИН</b>	
11.	 <p>Внести 100 мкл стоп-розчину в кожну лунку, використовуючи той же порядок, що і при піпетуванні субстрату.</p>
12.	 <p>Витримати 5 хвилин мінімум.</p>
13.	Ретельно струшувати пластину протягом 5 сек.
14.	 <p>Виміряти оптичну щільність при 450 нм (рекомендується 450/620 нм) протягом 30 хвилин.</p>

## 8 Якісна Інтерпретація

Зчитати оптичну щільність конкретного калібратора (A-H) і зразків пацієнтів. Помножити ОЩ калібратора на специфічний коефіцієнт, який надається. Для якісної інтерпретації 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.

Phospholipid-8PRO-GM	OD 450/620 нм
Негативний контроль	0.033
Cut-off Калібратор	0.5225

#### Приклад розрахунку

Ми рекомендуємо вносити Cut-off калібратор паралельно в кожному аналізі.

Отримане значення: ОЩ Калібратора Cut-off (β2-Glyco): 0.5225

Негативний:  $OD_{\text{пацієнта}} < 0.8 \times OD_{\text{Cut-off}} = 0.8 \times 0.5225 = 0.418$

Позитивний:  $OD_{\text{пацієнта}} > 1.2 \times OD_{\text{Cut-off}} = 1.2 \times 0.5225 = 0.627$

Сумнівний:  $0.418 \leq OD_{\text{пацієнта}} \leq 0.627$

№ ID	Зразок	Розрахунок OD	Інтерпретація
	ОЩ β2-Glyco		
1	0.99	> 0.627	Позитивний
2	0.49	≥ 0.418 та ≤ 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 контролі 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 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 β2-Глікопротеїном I, Кардіоліпіном та Фосфатидил -холіном, -етаноламіном, -інозитолом, -серіном і сфінгомієліном. Перехресної реакції не було виявлено з іншими аутоантигенами.

Оскільки **Phospholipid-Screen** складається з різних антигенів, відомі значення чутливості і специфічності APS перераховані в таблиці нижче.

	Sensitivity	Specificity
Cardiolipin	67%	73%
b2Glyco I	69%	69%
Phosphatidylserine	62%	83%
Phosphatidyl-Inositol	69%	75%
Ethanolamine	62%	78%
Choline	62%	79%

### 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	7.40	7.50	98.7
	1/200	3.50	3.75	93.3
	1/400	1.75	1.88	93.1
2	1/800	0.88	0.94	93.6
	1/100	3.60	3.50	102.9
	1/200	1.71	1.75	97.7
	1/400	0.85	0.88	96.6
	1/800	0.43	0.44	97.7

### 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.

Таблиці див. оригінал інструкції.

## 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)

