

## НАБІР ІФА

# ДЛЯ КОМПЛЕКСНОГО КІЛЬКІСНОГО ТА ЯКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ IgA, IgG ТА IgM АНТИТІЛ ПРОТИ КАРДІОЛІПІНУ

### 3245, Aeskulisa Cardiolipin-Check

Каталог. №: 3245

Методика від 08-10-2012

Кількість : 96

Версія 003

Виробник : AESKU. Diagnostics,

(Німеччина)



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

#### 1 Призначення

**AESKULISA Cardiolipin-Check** є твердофазним імуоферментним аналізом з використанням високого ступеня очищення кардіоліпину плюс нативного  $\beta$ 2-глікопротеїну I людини для комплексного кількісного та якісного визначення IgA, IgG та IgM антитіл проти кардіоліпину в сироватці крові людини. Антитіла анти-кардіоліпину розпізнають специфічні епітопи на комплексі який складається з кардіоліпину і  $\beta$ 2-глікопротеїну I, які виражаються тільки тоді, коли  $\beta$ 2-глікопротеїн I взаємодіє з кардіоліпіном.

Аналіз є допомогою в діагностиці та оцінці ризику тромбозу у пацієнтів з системним червоним вовчаком.

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

##### Принцип тесту

Зразки сироватки, розбавлені 1:101, інкубують в мікропланшетах з внесенням специфічного антигену. 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 1.5 мл	Зелений	Безколірний	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Позитивний Контроль	1 x 1.5 мл	Червоний	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Калібратор Cut-off	1 x 1.5 мл	Синій	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант)

Калібратори	6 x 1.5 мл	Білий	Жовтий*	Концентрація кожного калібратора: 0, 8, 17, 35, 70, 140 Од/мл. Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Кон'югат, IgA/G/M	1 x 15мл	Білий	Червоний	Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрому, бичачий сироватковий альбумін (BSA)
Субстрат ТМБ	1 x 15 мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований ТМБ/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Стоп Розчин	1 x 15 мл	Білий	Безколірний	1 М соляної кислоти
Мікропланшет	12 x 8- лункових смужок	--	--	смужки, які відокремлюються Покрыття див. пункт 1

\* Колір збільшується з концентрацією

#### НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Планшетний рідер з фільтром 450 нм і опційним референтним фільтром 620 нм (600-690 нм). Стекляний 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 Фармакопії США (USP 26 – NF 21) та Європейської Фармакопії (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, 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 Безпека 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 їжте і не пийте під час роботи 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.

Комплект містить матеріал тваринного походження, як зазначено в таблиці змісту, поводитись відповідно до національних вимог.

## 5.2 Загальні зауваження щодо використання

У разі, якщо інформація про продукт, в тому числі маркування, є спотвореною або неправильною, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тест-набору.

Не змішуйте і не замінійте 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.

**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 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:

Враховати 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:

Для **КІЛЬКІСНОЇ** інтерпретації

Для **ЯКІСНОЇ** інтерпретації

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

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






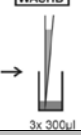

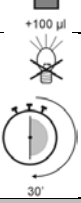
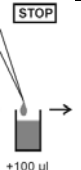
CalA: калібратор A  
CalB: калібратор B  
CalC: калібратор C


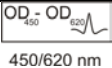
CalD: калібратор D  
CalE: калібратор E  
CalF: калібратор F

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: a. Калібраторів (CAL.A до CAL.F) для <b>КІЛЬКІСНОЇ</b> або b. Cut-off калібратора (CC) для <b>ЯКІСНОЇ</b> інтерпретації і 100 мкл кожного з наступних: <ul style="list-style-type: none"> <li>Негативного контролю (NC) і Позитивного контролю (PC), і</li> <li>Розведеної сироватки пацієнта (P1, P2 ...)</li> </ul> 
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.	 5'	Витримати 5 хвилин мінімум.
13.		Ретельно струшувати пластину протягом 5 сек.
14.	 450/620 nm	Виміряти оптичну щільність при 450 нм (рекомендується 450/620 нм) протягом 30 хвилин.

### 8 Кількісна та Якісна Інтерпретація

Для кількісної інтерпретації побудувати стандартну криву, відклавши оптичну щільність (OD) кожного калібратора (вісь Y) по відношенню до відповідних значень концентрації в Од/мл (вісь X). Для досягнення найкращих результатів ми рекомендуємо використання log/lip координат та 4-Параметрове налаштування. З OD кожного зразка зчитати відповідні концентрації антитіл, виражені в Од/мл.

Нормальний діапазон	Сумнівний діапазон	Позитивні результати
< 16 Од/мл	16-24 Од/мл	> 24 Од/мл

### Приклад стандартної кривої

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів

Калібратори IgG/AM	OD 450/620 нм	CV % (Варіація)
0 Од/мл	0.066	3.2
8 Од/мл	0.162	0.4
17 Од/мл	0.291	1.7
35 Од/мл	0.597	1.3
70 Од/мл	1.101	2.9
140 Од/мл	2.039	0.4

### Приклад розрахунку

Пацієнт	Дублікат (OD)	Середнє (OD)	Результат (Од/мл)
P 01	1.357/1.334	1.346	116.2
P 02	0.790/0.781	0.785	45.7

Зразки вище значення найвищого діапазону калібратора слід представляти у вигляді > Max. Вони повинні бути розведені в міру необхідності і знову аналізовані. Зразки нижче значень діапазону калібратора повинні бути представлені у вигляді < Min.

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 нормами ЄС.

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 якісної інтерпретації зчитати оптичну щільність Cut-off калібратора і зразків пацієнтів. Порівняти OD пацієнта з OD Cut-off калібратора. 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.

<b>Негативний:</b>	OD пацієнта < 0.8 x OD Cut-off
<b>Сумнівний:</b>	0.8 x OD Cut-off ≤ OD пацієнта ≤ 1.2 x OD Cut-off
<b>Позитивний:</b>	OD пацієнта > 1.2 x OD Cut-off

### 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
Діапазон калібрування:	0-140 Од/мл
Аналітична чутливість:	1.0 Од/мл
Зберігання:	при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони

Кількість визначень: 96 тестів

### 10 Робочі характеристики

#### 10.1 Аналітична Чутливість

Тестування буфера для зразків 30 разів з AESKULISA Cardioliipin-Check дало аналітичну чутливість 1.0 Од/мл.

#### 10.2 Специфічність і чутливість

Мікропланшет покритий високо очищеним кардіоліпіном і нативним людським β2-глікопротеїном I. Перехресної реактивності з іншими аутоантигенами не спостерігалось. Антитіла кардіоліпіну виявляються у до 70% пацієнтів з СЧВ.

#### 10.3 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 Од/мл	Очікувана концентрація Од/мл	Відновлення (%)
1	1/100	63.1	68.0	93.0
	1/200	33.7	34.0	99.1
	1/400	15.9	17.0	93.5
2	1/800	9.0	8.5	105.9
	1/100	138.6	141.8	97.7
	1/200	70.1	70.9	98.9
	1/400	33.2	35.5	93.5
	1/800	17.9	17.7	101.1

#### 10.4 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 (U/ml)	CV (%)
1	586.2	1.5
2	67.4	3.4
3	34.5	7.6

Inter-assay		
Sample No.	Mean (U/ml)	CV (%)
1	499.8	0.9
2	68.9	1.7
3	40.7	4.6

#### 10.5 Калібрування

Через відсутність референтних матеріалів ВООЗ, AESKULISA Кардіоліпінін-Check калібрується проти контрольних сироваток N.E. Харріс, Луїсвілл. Результати виражені в Од/мл для IgA/G/M.



### ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

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)