

НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ПРИСУТНОСТІ АНТИНУКЛЕАРНИХ АНТИТІЛ (ANAs) У СИРОВАТЦІ АБО ПЛАЗМІ ЛЮДИНИ

EIA-3562, ANA-8-Screen ELISA

Каталог. №: EIA-3562

Кількість : 96

Виробник : DRG (Німеччина)

Методика від 09-2015

Версія 4.0



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

1 НАЗВА І ПРИЗНАЧЕННЯ

Даний набір призначений для виявлення присутності антинуклеарних антитіл (ANAs) у сироватці або плазмі людини для деяких системних ревматичних захворювань. Цей аналіз сукупно визначає, в одній лунці, антитіла до SS-A/Ro, SS-B/La, RNP 70, Sm, RNP/Sm, Центромера B і Jo-1.

2. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Очищені антигени (SS-A/Ro, SS-B/La, RNP 70, Sm, RNP/Sm, Scl-70, центромери B і Jo-1) пов'язані в лунках. Антитіла до цих антигенів, якщо вони присутні в розбавлених сироватці або плазмі, зв'язуються з відповідним антигеном. Промивання лунок видаляє неспецифічні компоненти сироватки та плазми. Пероксидаза хрому (HRP), кон'югована з анти-IgG людини, імунологічно визначає пов'язані антитіла донорів, з утворенням кон'югату/комплексу антитіло-антиген. Промиванням мікролунок видаляється незв'язаний кон'югат. Ферментний субстрат в присутності пов'язаного кон'югату гідролізується з утворенням синього забарвлення. Додавання кислоти зупиняє реакцію, утворюючи жовтий кінцевий продукт. Інтенсивність цього жовтого кольору вимірюється фотометрично при довжині хвилі 450 нм.

4. КОМПОНЕНТИ НАБОРУ

| Вміст набору | 96 визначень |
|--------------|--|
| 1 шт. | Один мікропланшет на 12 модулів по 8 лунок кожен. Готовий до використання. |
| 1 x 1.5 мл | Калібратор , містить NA антитіла в сироватковій/буферній матриці (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), жовтого кольору. Готовий до використання. |
| 1 x 1.5 мл | Контроль негативний , містить ANA антитіла в сироватковій/буферній матриці (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), жовтого кольору. Готовий до використання. |
| 20 мл | Буфер для зразків P , містить PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), жовтого кольору, концентрат (5x). |
| 15 мл | Ферментний кон'югат ; містить антитіла анти-IgG людини, мічені HRP; PBS, BSA, детергент, Проклін 0.05%, світло-червоний. Готовий до використання. |
| 15 мл | ТМВ Субстрат , безбарвний. Готовий до використання. |
| 15 мл | Стоп-розчин ; містить кислоту. Готовий до використання. |
| 20 мл | Промивний розчин , містить Tris, детергент, консервант NaN ₃ 0.09%, концентрат (50x). |
| 1 | Інструкція для використання |
| 1 | Сертифікат аналізу |

5 НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

- Рідер для вимірювань при 450 нм; опційно: референсний фільтр при 620 нм
- Комп'ютерна програма для обробки даних
- Мультиканальний диспенсер або піпетка на 100 мкл
- Вортексний міксер
- Піпетки 10 мкл, 100 мкл і 1000 мкл
- Таймер
- Дистильована або деіонізована вода
- Градуйована ємність на 100 мл і 1000 мл
- Пластиковий контейнер для зберігання промивного розчину

Даний набір підходить для використання на відкритих автоматизованих ІФА процесорах. Кожен аналіз повинен бути оцінений на відповідній автоматизованій системі. Детальна інформація доступна за запитом.

6 ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ ТА РОБОТА ЗІ ЗРАЗКАМИ

1. Зберіть зразки цільної крові, використовуючи прийнятні медичні методи, щоб уникнути гемолізу.
2. Дозволити крові згорнутися і відокремити сироватку центрифугуванням.
3. Сироватка повинна бути прозорою і не гемолізованою. Забруднення гемолізом або ліпемією краще уникати, але вони не впливають на результати аналізу.
4. Зразки можуть зберігатися в холодильнику при температурі 2-8 °C протягом п'яти днів або зберігатися при -20 °C до шести місяців.
5. Уникайте повторних циклів заморожування і відтавання зразків сироватки. Це може призвести до втрати активності аутоантитіл.
6. Тестування інактивованої нагріванням сироватки не рекомендується.

7 ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

1. Зберігати набір при 2-8 °C в темноті.
2. Не піддавати реагенти впливу тепла, сонця або сильного світла під час зберігання і використання.
3. Тримайте лунки запечатані в сухому пакеті з осушувачем.
4. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, 18 місяців від дня виробництва.
5. Розведений буфер для зразків та промивний буфер стабільні протягом принаймні 30 днів при зберіганні при температурі 2-8 °C. Рекомендується використання в той же день.

8 ЗАУВАЖЕННЯ ПО ПРОВЕДЕННЮ АНАЛІЗА

1. Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну їх дії.
2. Не міняйте компоненти набору з різних серій.
3. Всі матеріали повинні бути при кімнатній температурі (20-28 °C).
4. Майте все реагенти і зразки готові до початку аналізу. Після початку тестування тест повинен бути виконаний без перерви, щоб отримати найбільш надійні та стійкі результати.
5. Виконувати кроки аналізу тільки в зазначеному порядку.
6. Завжди використовуйте свіжі розведення зразків.
7. Вносити всі реагенти і зразки на дно лунки.
8. Щоб уникнути забруднення при перенесенні, змінювати наконечники між зразками і різними контролями.
9. Для досягнення найкращих результатів дуже важливо ретельно промити мікропланшет і видалити останні краплі промивного буфера.
10. Всі кроки інкубації повинні бути виконані з однаковими інтервалами.
11. Контрольні сироватки або пули повинні регулярно аналізуватися як невідомі для перевірки ефективності реагентів та аналізу.
12. Не використовуйте повторно лунки мікропланшета.

9 ПЕРЕСТОРОГИ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Усі реагенти даного набору призначені тільки для дослідницьких цілей.
2. Не міняйте компоненти набору з різних партій.
3. Компоненти, що містять людську сироватку, були перевірені схваленими FDA методами і виявились негативними на HBsAg, HCV, HIV1 і HIV2. Ніякі дослідження не можуть гарантувати відсутність HBsAg, HCV, HIV1 або HIV2, і тому всі реагенти, засновані на людській сироватці, повинні бути оброблені потенційно інфіковані.
4. Уникайте контакту з ТМБ (3,3', 5,5'-тетраметил-бензидин). При контакті ТМБ зі шкірою, ретельно промийте водою з милом.
5. Уникайте контакту зі Стоп розчином, який є кислотою. Якщо він вступає в контакт з шкірою, ретельно промийте водою і зверніться до лікаря.
6. Деякі компоненти комплекту (тобто Контролі, буфер для Зразків і буферизований Промивний Розчин) містять азид натрію в якості консерванту. Азид натрію (NaN₃) є високотоксичним і реактивним в чистому вигляді. В концентрації продукту (0.09%), не є небезпечним. Незважаючи на класифікації як небезпечного, ми настійно рекомендуємо дотримуватись правил лабораторної практики (див. 8, 9, 10).
7. Деякі компоненти набору містять Проклін 300 в якості консерванту. При утилізації реагентів, що містять Проклін 300, промивати стоки з великою кількістю води, щоб розбавити компоненти нижче активного рівня.
8. Носити одноразові рукавички при роботі зі зразками і реагентами і ретельно мити руки після цього.
9. Не піпетувати ротом.
10. Не вживати їжу, не пити, не палити або наносити макіяж в місцях роботи зі зразками або реагентами.
11. Уникайте контакту між буферним Розчином Пероксидази і легко окисних матеріалів; екстремальні температури можуть ініціювати самозаймання.

Дотримуйтеся рекомендації для проведення контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролів та/або об'єднаних сироваток.

Під час використання всіх реагентів набору, зразків і сироватки дотримуйтеся чинних правових норм.

10 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер

Розвести вміст кожного флакона концентрату буфера Промивного розчину (50x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням.

Буфер для зразків

Розвести вміст кожного флакону (20 мл) концентрату буфера для зразків (5x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 100 мл перед використанням.

11 ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Розвести всі зразки донорів 1:100 буфером для зразка перед дослідженням.

Тому змішати 10 мкл зразка з 990 мкл буфера для зразка в полістироловій пробірці. Все добре перемішати.

Контролі готові до використання і не повинні бути розведені.

12 ПРОЦЕДУРА ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТУ

Підготуйте достатню кількість лунок мікропланшета для контролів і розведених зразків.

1. Внести **100 мкл** калібраторів, контролів і розведених зразків в лунки.
2. Інкубувати протягом **30 хвилин** при кімнатній температурі (20-28 °C).
3. Видалити вміст лунок і промити **3 рази з 300 мкл** промивного розчину.
4. Внести **100 мкл** ферментного кон'югату в кожен лунку.
5. Інкубувати протягом **15 хвилин** при кімнатній температурі.
6. Видалити вміст лунок і промити **3 рази з 300 мкл** промивного розчину.
7. Внести **100 мкл** розчину субстрату ТМВ в кожен лунку.
8. Інкубувати протягом **15 хвилин** при кімнатній температурі.
9. Додати **100 мкл** стоп-розчину в кожен лунку.
10. Інкубувати протягом **5 хвилин** при кімнатній температурі.
11. **Зчитати** оптичну щільність при 450 нм і обчислити результати. Рекомендується біхроматичне вимірювання з референтною довжиною хвилі 600-690 нм. Отриманий колір є стабільним протягом принаймні 30 хвилин. Читайте оптичні щільності протягом цього часу.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|----------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | CAL | | | | | | | | | | | |
| B | C- | | | | | | | | | | | |
| C | P1 | | | | | | | | | | | |
| D | P2 | | | | | | | | | | | |
| E | P3 | | | | | | | | | | | |
| F | P4 | | | | | | | | | | | |
| G | P5 | | | | | | | | | | | |
| H | | | | | | | | | | | | |

P1, ... зразки пацієнтів, CAL калібратори, C- негативний контроль

13 АТЕСТАЦІЯ

Результати тесту є дійсними, якщо оптичні щільності при 450 нм для калібраторів/контролів і результати для контролів збігаються зі значеннями в діапазоні, зазначеному в Сертифікаті Контролю якості, який поставляється в кожному наборі.

Якщо зазначені критерії не виконуються, аналіз вважається недійсним і його необхідно повторити.

14 ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Спочатку оптична щільність (OD) Cut-off розраховується множенням оптичної щільності калібратора на відповідний фактор 0.5:

$$OD \text{ Cut-off} = OD \text{ Калібратора} * 0.5$$

Потім оптична щільність зразка порівнюється з оптичною щільністю Cut-off:

Негативний: OD зразка < OD Cut-off
 Позитивний: OD зразка ≥ OD Cut-off

Для точних результатів оптична щільність зразка виражається як значення Індексу:

$$Індекс = OD \text{ зразка} / OD \text{ Cut-off}$$

15 ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛІЗУ

15.1 Калібрування

Система калібрована відносно референтної сироватки від CDC, Атланта, США.

15.2 Діапазон вимірювання

Не застосовується.

15.3 Очікувані значення

При проведенні дослідження в нормальному діапазоні зразків від здорових пацієнтів були отримані наступні значення з даними аналізом:

Cut-off Індекс 1.0

15.4 Інтерпретація результатів

Негативний: Індекс < 1.0

Граничний: Індекс 1.0 – 1.2

Позитивний: Індекс > 1.2

15.5 Лінійність

Зразки пацієнтів, що містять високі рівні специфічних антитіл, були серійно розведені Буфером для зразків. Активність для кожного розведення була розрахована як значення Індекса.

| Зразок | Розведення | Отриманий індекс | Очікуваний індекс | Відношення, % |
|--------|------------|------------------|-------------------|---------------|
| 1 | 1:100 | 5.8 | 5.8 | 100 |
| | 1:200 | 2.7 | 2.9 | 93 |
| | 1:400 | 1.6 | 1.5 | 110 |
| | 1:800 | 0.8 | 0.7 | 110 |
| 2 | 1:1600 | 0.4 | 0.4 | 106 |
| | 1:100 | 4.9 | 4.9 | 100 |
| | 1:200 | 2.7 | 2.5 | 110 |
| | 1:400 | 1.3 | 1.2 | 106 |
| | 1:800 | 0.6 | 0.6 | 98 |
| | 1:1600 | 0.3 | 0.3 | 90 |

15.6 Межа виявлення

Не застосовується.

15.7 Відтворюваність

Точність всередині аналізу:

Коефіцієнт варіації (CV) розраховувався для кожного з трьох зразків з результатів 24 визначень в одному запуску. Результати наведені в таблиці нижче.

Точність між аналізами:

Коефіцієнт варіації (CV) розраховувався для кожного з трьох зразків з результатів 6 аналізів в 5 різних дослідженнях. Результати наведені в таблиці нижче.

| Точність всередині аналізу | | |
|----------------------------|-----------------|--------|
| № зразка | Середнє індексу | CV [%] |
| 1 | 1.1 | 3.5 |
| 2 | 1.9 | 2.4 |
| 3 | 3.2 | 2.2 |

| Точність між аналізами | | |
|------------------------|-----------------|--------|
| № зразка | Середнє індексу | CV [%] |
| 1 | 1.2 | 6.5 |
| 2 | 1.9 | 4.0 |
| 3 | 3.3 | 3.8 |

15.8 Інтерферуючі субстанції

Інтерференція не спостерігалася при реакції з гемолітичними (до 1000 мг/дл) або ліпемічними (до 3 г/дл тригліцеридів) зразками сироватки або плазми, або білірубіном (до 40 мг/дл).

Антикоагулянти також не впливають на результати. Тим не менш, не рекомендується використання сильно гемолізованих або ліпемічних зразків.

15.9 Результати досліджень

Див. Таблиці в оригіналі інструкції.

Чутливість: 96.4 %

Специфічність: 98.0 %

Загальна узгодженість: 97.3 %

16. ОБМЕЖЕННЯ

Даний аналіз призначений для діагностичного використання. Точний клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах тільки одного тесту, а повинен бути поставлений після всіх клінічних та лабораторних досліджень. Також кожне рішення по терапії повинно прийматися індивідуально.



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

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

