



Набор ИФА для определения КАРДИОЛИПИНА IgG

Кат. № : EIA-2788
Количество : 96
Производитель : DRG (Германия)

Методика 15-06-2010

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для обнаружения и полу количественного определения IgG антител к кардиолипину в сыворотке или плазме человека. Анализ используется для определения антител в одном образце сыворотки. Результаты используются в целях диагностики анти-фосфолипидного синдрома в пациентов с аутоиммунным заболеванием.

Только для диагностики in vitro.

ПРИНЦИП МЕТОДА.

Данный тест является энзимно-связанным иммуносорбентным анализом для определения IgG, антител к антигенам кардиолипина.

Очищенные антигены кардиолипина добавлены к твердой фазе микроячеек анализа. Разбавленная сыворотка или плазма пациента и калибраторы добавляются в ячейки. Если присутствуют антитела, которые распознают антиген, формируется комплекс антиген – антитело. После инкубации ячейки промываются для удаления несвязанного антитела.

Если присутствует антитело, конъюгат связывается к антиген-антитело комплексу. После инкубации ячейки промываются для удаления несвязанного конъюгата. Добавляется в каждую ячейку субстрат раствор. Если присутствует энзим, субстрат изменяет окрас. Интенсивность цвета пропорциональна количеству специфических антител в образце.

Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются параллельно с калибраторами.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Все компоненты набора при хранении их при необходимых условиях стабильны до окончания срока пригодности. Не используйте после окончания срока пригодности.
2. Невскрытый микропланшет необходимо хранить при 2-8°C. Неиспользованные стрипы необходимо немедленно поместить в запечатанный пакет с осушителем и индикатором влаги и хранить при 2-8°C. Рекомендуется использовать ячейки на протяжении 30 дней
3. Все реагенты необходимо хранить и использовать вдали от света, тепла и солнца.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Образцы следует собрать асептической венепункцией и приготовить сыворотку, используя приемлемую технику.
2. Сыворотка может храниться до 7 дней при 2-8°C. До 6 месяцев - храните образцы замороженные при -20 - -70°C. Избегайте многократных циклов замораживания / размораживания.

РЕАГЕНТЫ И ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Планшетка** с привитым антигеном кардиолипина: 96 ячеек
2. **Конъюгат:** 1 бут., 15 мл., белая крышка.
3. **Контроль (Положительный контроль)** 1 бут., 0.35 мл., красная крышка.
4. **Набор калибраторов:** 1 бут., 0.5 мл., синяя крышка.
5. **Контроль (Отрицательный контроль)** 1 бут., 0.35 мл., зеленая крышка.
6. **Разбавитель образца:** 1 бут., 30 мл., (зеленая крышка), содержащая Твин-20, бычий сывороточный альбумин и фосфатный буфер-солевого раствора, (pH 7.2±0.2). Зеленый раствор, готовый к использованию.

Примечание: Перед употреблением хорошо взболтать. Консерванты добавлены.

7. **ТМБ:** 1 бут., 15 мл., бутылка янтарного цвета (желтый колпачок) содержащей 3,3, 5,5 - тетраметилбензидина (ТМБ). Готов к использованию. Содержит <15%
8. **Стоп раствор:** 1 бут., 15 мл. Содержит 1M H₂SO₄, 0.7M HCl. Готовый к использованию.
9. **Моющий буфер** (10x концентрат): 1 бут., 100 мл.

Примечание: 1X раствор будет иметь pH 7.2±0.2

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

- Обращайтесь с реагентами и образцами как с потенциально инфицированными.
- Калибраторы и контроли содержат материалы человеческого происхождения, которые были протестированы и найдены как нереактивные на присутствие Гепатита В поверхностного антигена и антител на HIV. Тем не менее никакой тест не может гарантировать полное отсутствие этих вирусов, равно как и других вирусов.
- Не пипетируйте ртом. Избегайте контакта реагентов и образцов пациентов с кожей и слизистыми. Нельзя есть, пить и пользоваться косметикой в месте, где используются реагенты.
- Не смешивайте компоненты разных лотов и изготовителей.
- Некоторые реагенты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид может реагировать со свинцом и медью и формировать взрывоопасные вещества. При попадании, промойте большим количеством воды.
- Избегайте контакта с реагентами.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

1. Приготовление 1x моющего буфера
Разбавьте 10x моющий буфер к окончательному объему 1 л дистиллированной или /и неионизированной водой.
2. Все реагенты следует вынуть из рефрижератора и привести к комнатной температуре перед использованием (21-25°C).

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Установите необходимое количество привитых стрипов в держатель.
Предварительно промойте микропланшетные лунки – Повторите промывание три раза моющим буфером.
2. Приготовьте 1:101 разбавление тестового образца добавлением 5 мкл образца в 500 мкл разбавителя образцов. Тщательно смешайте.
Не разбавляйте 1:101 предварительно разбавленных Калибраторов и Контролей.
3. В ячейки внести 100 мкл предварительно разбавленных образцов, калибраторов и контролей. Постучите по держателю, чтобы избежать образования воздушных пузырьков и хорошего смешения. Инкубировать при комнатной температуре (21-25°C) **30 минут**.
4. Удалите жидкость с ячеек. Повторите промывание три раза моющим буфером.
5. Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую ячейку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
6. Удалите ферментный конъюгат с ячеек. Повторите промывание три раза моющим буфером.
7. Добавьте 100 мкл раствора хромоген / субстрата в каждую ячейку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
8. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора. Перед считыванием убедитесь что в ячейках нету воздушных пузырьков.
9. Результаты необходимо считать ELISA планшетным ридером при 450 нм

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Постройте стандартную кривую откладывая ОП 450нм на оси y напротив концентрации калибратора GPL на оси x на специальной бумаге.
2. Используя значение ОП каждого образца, определите концентрацию из стандартной кривой.
3. Типичный пример см в оригинале инструкции.

ИНТЕРПРИТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Негативный < 20 GPL
 Низко положительный 20 < 30 GPL
 Умеренно положительный 30 < 80 GPL
 Высоко позитивный ≥ 80 GPL

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Повышенные уровни АСА – случайные, хотя редко наблюдаются в обычного населения. Тем не менее, несколько аутоиммунных и инфекционных заболеваний могут стать результатом временного или хронического возрастания АСА.

Повышенные уровни АСА репортировались в SLE, ревматоидном артрите, туберкулезе, синдроме Бецета и другие болезни.

Уровень нормальных значений АСА может меняться от популяции к популяции.

ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. Результаты не должны интерпретироваться как диагностические. Результаты должны использоваться в целях диагноза. Результаты должны интерпретироваться согласно клинической картине пациента в целом.
2. Хотя АСА ассоциировался с определенным множеством SLE, клиническая важность АСА и SLE и других болезней остается под исследованием.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

Чувствительность, специфичность и точность

В таблице в оригинале инструкции суммированы все данные.

Относительная чувствительность = 44/48 = 91.7%

Относительная специфичность = 161/212 = 75.9%

Совпадение = 205/260 = 78.8%

95% Доверительный Интервал* = 83.8-99.4%

95% Доверительный Интервал* = 70.2-81.7%

95% Доверительный Интервал* = 73.8-83.8%

*95% доверительный интервал рассчитывается с использованием точных методов.

Перекрестная реактивность

Проводилось изучение для определения перекрестной реактивности антител АСА этого набора и других антител. Не было найдено перекрестной реактивности против IgG позитивных образцов Рубеллы, CMV, HSV, EBV-VCA, Toxo, DS-DNA, Chlamidia trachomatis, ANA, Dengue and RF IgM.

Точность

Таблички смотрите в оригинале инструкции.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).