

НАБОР ИФА

ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ КЛАССА IgG К МИТОХОНДРИАЛЬНОМУ АНТИГЕНУ ПОДТИПА M2

EIA-3604, AMA-M2

Каталог. № : EIA-3604 Методика от 03-2013
Количество : 96 Версия 5.0
Производитель: DRG (США)



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

1 НАЗВАНИЕ И ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения аутоантител класса IgG к митохондриальному антигену подтипа M2 в сыворотке или плазме человека.

Данный анализ предназначен для использования в диагностике *in vitro*.

2 ПРИНЦИП МЕТОДА

Высокоочищенный митохондриальный антиген подтипа M2 привит в лунках.

Антитела к привитым антигенам, если они присутствуют в разбавленной пробе пациента, связываются с соответствующим антигеном. Промывание лунок удаляет несвязанные неспецифические компоненты сыворотки и плазмы. Античеловеческие антитела, конъюгированные с Пероксидазой хрена (HRP), иммунологически обнаруживают связанные антитела пациента, формируя комплекс конъюгат-антитело-антиген. Промывание лунок удаляет несвязанный конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связанного конъюгата гидролизует с образованием синей окраски. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя конечный продукт желтого цвета. Интенсивность этого желтого цвета измеряется фотометрически при 450 нм. Количество окрашивания прямо пропорционально концентрации антител, присутствующих в исходном образце.

3 РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ (См. оригинал инструкции на англ. языке)

4 СОДЕРЖИМОЕ НАБОРА

Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый. Готов к использованию.	1
Калибратор А 0 Ед/мл, содержащий сывороточную/буферную матрицу (PBS, BSA, моющее средство, NaN ₃ 0,09%), желтый. Готов к использованию.	1 x 1.5 мл
Калибратор В 12.5 Ед/мл, содержащий антитела AMA-M2 в сывороточной/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN ₃ 0,09%), желтый. Готов к использованию.	1 x 1.5 мл
Калибратор С 25 Ед/мл, содержащий антитела AMA-M2 в сывороточной/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN ₃ 0,09%), желтый. Готов к использованию.	1 x 1.5 мл
Калибратор D 50 Ед/мл, содержащий антитела AMA-M2 в сывороточной/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN ₃ 0,09%), желтый. Готов к использованию.	1 x 1.5 мл
Калибратор E 100 Ед/мл, содержащий антитела AMA-M2 в сывороточной/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN ₃ 0,09%), желтый. Готов к использованию.	1 x 1.5 мл
Калибратор F 200 Ед/мл, содержащий антитела AMA-M2 в сывороточной/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN ₃ 0,09%), желтый. Готов к использованию.	1 x 1.5 мл
Контроли (Положительный и Отрицательный) , содержащие антитела AMA-M2 в сывороточной/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN ₃ 0,09%), желтого цвета. Готовы к использованию. Концентрация указывается в сертификате анализа.	2 флакона 1.5 мл каждый
Буфер для образцов Р , содержит PBS, BSA, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 х).	1 флакон 20 мл
Ферментный конъюгат , содержащий античеловеческие антитела IgG, меченые пероксидазой хрена; содержит PBS, BSA, детергент, консервант Проклин 0.05%, светло-красный. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл

Раствор субстрата ТМБ , содержит 3,3', 5,5'-Тетраметилбензидин. Бесцветный. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор , содержит кислоту. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор , содержит Tris, детергент, консервант азид натрия 0.09%; концентрат (50x)	1 флакон 20 мл
Инструкция по применению	1 шт.
Сертификат контроля качества	1 шт.

5 НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм; опционно: контрольный фильтр с длиной волны 620 нм
 - Программное обеспечение для ридера
 - Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объемом 100 мкл
 - Вortexный миксер
 - Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
 - Таймер
 - Дистиллированная или деионизированная вода
 - Мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
 - Пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора
- Наборы ИФА являются подходящими для использования на открытых автоматизированных процессорах. Каждый анализ должен быть оценен на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

6 СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемую медицинскую технологию, избегая гемолиза.
- Дайте возможность крови сгуститься и отделите сыворотку центрифугированием.
- Сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Необходимо избегать гемолитической или липемической сыворотки.
- Образцы должны храниться при 2-8⁰С до 5 дней или при -20⁰С до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к потере активности аутоантителами.
- Не рекомендуется тестирование инактивированной жарой сыворотки.

7 ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить набор при 2 - 8 °С в темноте.
- Держать микропланшетные лунки в герметичном мешочке с осушителем.
- Реагенты стабильны до окончания срока годности набора.
- Не поддавать реагенты для анализа воздействию тепла, солнца или сильного света в течении хранения и использования.
- Разбавленный буфер образца и промывочный буфер стабильны по крайней мере 30 дней при 2 - 8 °С. Рекомендуется использование в тот же день.

8 ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты набора после окончания срока пригодности.
- Не меняйте компоненты набора между разными лотами.
- Все материалы следует привести к комнатной температуре.
- Все реагенты при начале анализа должны быть готовы к работе. После начала анализа необходимо проводить непрерывно для получения надежных и точных результатов.
- Проводите все шаги анализа в указанном порядке.
- Всегда используйте свежую разбавленную сыворотку.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
- Для предотвращения загрязнения меняйте наконечники между образцами и разными контролями набора.
- Очень важно промывать ячейки тщательно и удалять полностью всю жидкость для получения оптимальных результатов.
- Все шаги инкубации должны проводиться определенное время.
- Контрольная сыворотка должна анализироваться как неизвестная для проверки реагентов и анализа.
- Не используйте повторно ячейки микроплшета.

9 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

- Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
- Не смешивайте компоненты наборов из различных лотов.
- Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту В и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы.

- Следовательно, с реагентами и образцами сыворотки следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
- Избегайте контакта с ТМБ (3,3',5,5'-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
 - Стоп раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
 - Некоторые компоненты набора (напр. Контроли, буфер образцов и буферный моющий раствор) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия является высоко токсичным и реактивным в чистой форме. При концентрации в продукте 0,09% тем не менее не опасен. Вопреки классификации как неопасный, мы настоятельно рекомендуем использовать обычные правила безопасности.
 - Некоторые наборы содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При уничтожении реагентов, содержащих проклин 300, промойте большим количеством воды для разбавления компонентов до ниже активного уровня.
 - Используйте перчатки при работе с образцами и реагентами и тщательно мойте руки после работы.
 - Не пипетируйте ртом.
 - Не ешьте, не пейте, не курите или не применяйте косметику в местах работы с образцами или реагентами набора.
 - Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами: повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.
 - Придерживайтесь руководств по осуществлению контроля качества в лаборатории, используйте исследования контролей и/или пулированных сывороток. Придерживайтесь существующего законодательства при работе со всеми реагентами и образцами.

10 ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием.

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием.

11 ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Разбавьте образцы пациентов **1:100** перед анализом. Для этого добавьте до 10 мкл образца 990 мкл буфера для образца в пробирке из полистирола. Тщательно перемешайте.

Примечание: Калибраторы/Контроли готовы к использованию, их не нужно разбавлять.

12 ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Приготовьте достаточное количество стрипов для контролей/калибраторов и проб пациентов.

1. Добавьте **100 мкл** калибраторов, контролей и разбавленных образцов пациентов в каждую ячейку.
2. Инкубируйте **30 минут** при комн. температуре (20 - 28 °C).
3. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
4. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
5. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
6. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
7. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
8. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
9. Добавьте **100 мкл** стоп раствора в каждую ячейку.
10. Инкубируйте **5 минут** при комнатной температуре.
11. **Считайте** оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Бихроматическое измерение проводите при 600-690 нм. Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Пример пипетирования:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	P1										
B	B	P2										
C	C	P3										
D	D	P4										
E	E	P5										
F	F	P6										
G	C+	P7										
H	C-	P8										

P1 ... - образцы пациентов, A-F - калибраторы, C +, C-- контроли

13 ОЦЕНКА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм для Калибраторов/Контролей и результатов контролей совпадает с соответствующим диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, прилагаемом к набору. Если какой-либо из указанных критериев не соответствует, результаты должны быть признаны недействительными и тестирование должно быть повторено.

14 РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для количественных результатов отложить оптическую плотность каждого калибратора согласно концентрации калибратора, чтобы построить калибровочную кривую. Концентрация образцов пациентов может быть затем оценена с калибровочной кривой с помощью интерполяции.

Для данного набора рекомендуется 4-параметрический с линейно-логарифмическими координатами метод для оптической плотности и концентрации.

15 ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

15.1 Калибровка

Система анализа калибруется против международного эталонного препарата ВОЗ 67/183 для АМА-М2 со значением 100 МЕД/мл.

15.2 Диапазон измерения

Расчетный диапазон данного ИФА анализа составляет: 0-200 Ед/мл

15.3 Ожидаемые значения

В нормальном диапазоне исследования с образцами от здоровых доноров крови следующие диапазоны были установлены с этим анализом ИФА: Пороговое значение Cut-off 10 Ед/мл

15.4 Интерпретация результатов

Отрицательный: < 10 Ед/мл

Положительный: ≥ 10 Ед/мл

15.5 Линейность

Образцы пациентов, содержащих высокие уровни специфических антител, серийно разводили в буфере для образца, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа. Активность для каждого разведения была рассчитана из калибровочной кривой.

Образец	Разведение	Полученное значение, Ед/мл	Ожидаемое значение, Ед/мл	П/О, %
1	1:100	64.8	64.8	100
	1:200	35.6	32.4	110
	1:400	15.8	16.2	97
	1:800	8.3	8.1	102
	1:1600	3.6	4.1	89
2	1:100	121.2	121.2	100
	1:200	63.4	60.6	105
	1:400	29.7	30.3	98
	1:800	14.8	15.2	97
	1:1600	7.3	7.6	96

15.6 Предел обнаружения

Функциональная чувствительность составила: 1 Ед/мл

15.7 Воспроизводимость

Внутри тестовая точность: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов из результатов 24 определений в одном анализе. Результаты для точности в пределах анализа приведены в таблице ниже.

Межсерийная точность: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных анализах. Результаты для выполнения к запуску точности приведены в таблице ниже.

Внутри анализа		
Образец	Среднее Значение Ед/мл	CV [%]
1	39.8	7.0
2	81.3	3.8
3	177.3	3.6

Между анализами		
Образец	Среднее Значение Ед/мл	CV [%]
1	40.1	6.2
2	84.6	11.8
3	180.4	3.8

15.8 Перекрестно реагирующие вещества

Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или повышенным содержанием билирубина (до 40 мг/дл). Не наблюдалось какого-либо влияния при использовании антикоагулянтов. Однако, не рекомендуется использовать образцы с сильным гемолизом или липемией.

15.9 Результаты исследований (См. оригинал инструкции)

16 ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ предназначен в качестве диагностической помощи. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, он должен быть сделан врачом после оценки всех клинических и лабораторных исследований.

Также каждое решение для терапии следует принимать индивидуально.

Вышеуказанные патологические и нормальные диапазоны для антител в образцах пациента следует рассматривать только в качестве рекомендаций. Каждая лаборатория должна установить свои собственные нормы, в соответствии с ISO 15189 или другие действующие правила лаборатории



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com