

НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО ДВОСПІРАЛЬНОЇ ДНК, СКРИНІНГ

3140, Aeskulisa dsDNA-Check

Кам. № : 3140 Методика від 28-10-2015
Кількість : 96 Версія 003
Виробник : AESKU. Diagnostics,
(Німеччина)



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 dsDNA-Check є твердофазним імуноферментним аналізом з використанням людських рекомбінантних дволанцюгових ДНК (дл) для комбінованого кількісного та якісного визначення IgG, IgA і IgM антитіл проти дволанцюгової ДНК в сироватці крові людини.

Антитіла анти-дДНК в основному визнають фосфатні одиниці ДНК, таким чином, ці аутоантитіла також пов'язують одноланцюгові ДНК (одДНК). Для забезпечення правильного кількісного визначення анти-дволанцюгових ДНК антитіл антиген, що використовується, має бути вільним від забруднення з одноланцюговою ДНК.

Аналіз є інструментом в диференціальній діагностиці системного червоного вовчака (СЧВ).

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, з'являються з антигеном. Нез'язана фракція вимивається на наступній стадії. Потім анти-людські імуноглобуліни, кон'юговані з Пероксидазою хрону (кон'югат), інкубують і відбувається реакція з комплексом антиген-антитіло в зразках в Мікропланшетах. Нез'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 колору 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 Tris, NaCl, BSA, азид натрію < 0.1% (консервант)
Промивний буфер (50x)	1 x 20 мл	Білий	Зелений	50 x концентрований Tris, 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 (BCA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Позитивний Контроль	1 x 1.5 мл	Червоний	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BCA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Калібратор Cut-off	1 x 1.5 мл	Синій	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BCA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Калібратори	6 x 1.5 мл	Білий	Жовтий*	Концентрація кожного калібратора: 0, 3, 10, 30, 100, 300 ОД/мл.

				Людська сироватка (розведена), бічачий сироватковий альбумін (БСА), азид натрію < 0.1% (консервант)
Кон'югат, IgA/G/M	1 x 15 мл	Білий	Червоний	Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрону, бічачий сироватковий альбумін (БСА)
Субстрат ТМБ	1 x 15 мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований ТМВ/H ₂ O ₂
Стоп Розчин	1 x 15 мл	Білий	Безколірний	1 М соляної кислоти
Мікропланшет	12 x 8-лункових смужок	--	--	смужки, які відокремлюються Покриття див. пункт 1

Зберігання та термін придатності

Зберігання та термін придатності:
берігайте всі реагенти і Мікропланшет при температурі 2-8 °C/35-46 °F, в ригіральній 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 пливу світла на ТМВ розчин. Зберігайте мікропланшети в призначений 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, притримуйтесь 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_3) як консервант. NaN_3 може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN_3 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 при роботі з набором. Не піпетувати ротом.

Весь відхиленій 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, поводиться 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 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 рекомендуюмо 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 зібрани 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 взірців 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:

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:

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

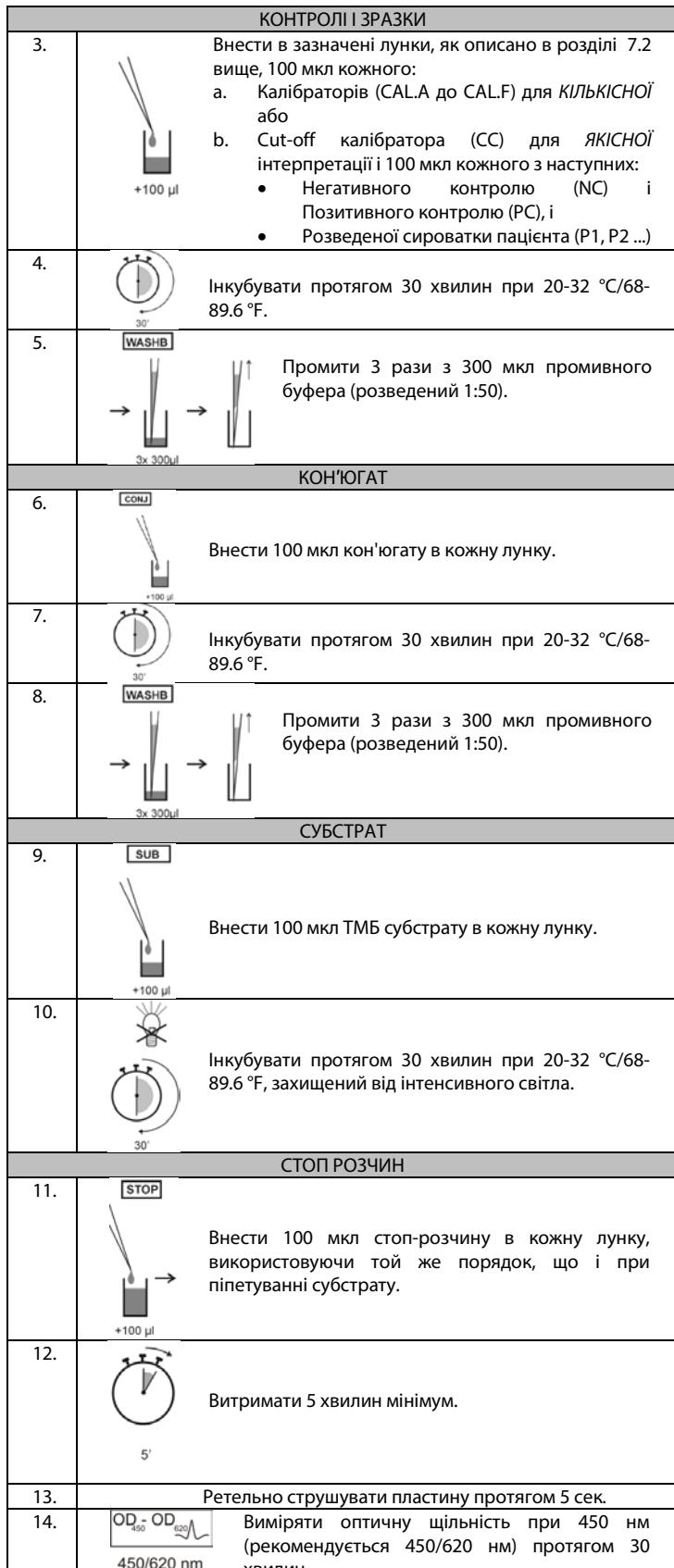
CalD: калібратор
D
CalE: калібратор
E
CalF: калібратор
F

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.	Переконайтесь, що підготовка відповідно до пункту 7.1 вище була проведена перед піпетуванням.
2.	Використовуйте наступні кроки для отримання необхідних кількісних/якісних результатів:



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/lin 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

Ми рекомендуємо паралельне піпетування калібраторів для кожного аналізу.

Калібратори IgG/A/M	OD 450/620 нм	CV % (Варіація)
0 Од/мл	0.036	2.9
3 Од/мл	0.176	2.3
10 Од/мл	0.314	2.9
30 Од/мл	0.618	2.9
100 Од/мл	1.312	0.1
300 Од/мл	2.076	0.7

Приклад розрахунку

Пациєнт	Дублікат (OD)	Середнє (OD)	Результат (Од/мл)
P 01	0.799/0.744	0.772	40.3
P 02	1.404/1.393	1.399	119.5

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 контролі 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.

Негативний: OD пацієнта $< 0.8 \times OD_{Cut-off}$

Сумінівний: $0.8 \times OD_{Cut-off} \leq OD_{пацієнта} \leq 1.2 \times OD_{Cut-off}$

Позитивний: OD пацієнта $> 1.2 \times OD_{Cut-off}$

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

Діапазон калібрування: 0-300 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. Дані продуктивності

10.1 Аналітична Чутливість

Тестування буфера для зразків 30 разів на AESKULISA dsDNA-Check (REF7140) дало аналітичну чутливість 1.0 Од/мл.

10.2 Специфічність і чутливість

Мікропланшет покритий високо очищеним **рекомбінантним людським длДНК**. Перехресної реактивності з іншими атоантigenами не було виявлено. Антитіла, спрямовані на длДНК, показують діагностичну чутливість 85% для СЧВ, що дозволяє диференціювання від інших запальних ревматичних захворювань. Поєднання всіх трьох підкласів імуноглобуліну призводить до діагностичної чутливості тесту AESKULISA длДНК 90%.

10.3 Лінійність

Обрані сироватки тестиувались з цим набором і було встановлено лінійність розведення. Тим не менше, через неоднорідність характеру людських атоантитіл можуть існувати зразки, що не підлягають цьому правилу.

№ Зразка	Фактор розведення	Вимірювана концентрація (Од/мл)	Очікувана концентрація (Од/мл)	Відновлення (%)
1	1/100	42.9	43.2	99.3
	1/200	20.4	21.6	99.4
	1/400	9.3	10.8	86.1
	1/800	4.9	5.4	90.7
2	1/100	179.4	176.0	101.9
	1/200	88.4	88.0	98.2
	1/400	41.8	44.0	95.0
	1/800	19.8	22.0	90.0

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	> 300.0	2.1
2	138.0	2.4
3	26.4	4.7

Inter-Assay

Sample No.	Mean (U/ml)	CV (%)
1	463.3	2.6
2	171.6	2.3
3	58.2	4.6

10.5 Калібрування

Через відсутність міжнародного еталонного калібрування цей аналіз відкалібрований в умовних одиницях (Од/мл).

Пояснення символів, що використовуються на маркуванні:

	Медичний виріб для діагностики in vitro
	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'югat
	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»
бул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

