

НАБІР ІФА
ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ
ДО КАРДІОЛІПІНУ, GM

3204, Aeskulisa Cardiolipin-GM

Кат. № : **3204** Методика від **01-09-2017**
Кількість : **96** Версія **004**
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 Кардіоліпін-GM є твердофазним імуноферментним аналізом з використанням високо очищеного кардіоліпину плюс нативного людського $\beta 2$ -глікопротеїну I для кількісного та якісного виявлення IgG і/та IgM антитіл проти кардіоліпину в сироватці крові людини. Антитіла анти-кардіоліпину в основному розпізнають специфічні епітопи на комплексі в складі 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 (SLE).

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 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 (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, 3, 10, 30, 100, 300 GPL/мл або MPL/мл. Людська сироватка (розведена),

				бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Кон'югат, IgG IgM	1 x 15 мл 1 x 15 мл	Синій Зелений	Синій Зелений	Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрому, бичачий сироватковий альбумін (BSA)
Субстрат ТМВ	1 x 15 мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований ТМВ/Н 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
* Колір збільшується з концентрацією				
НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ				
Планшетний рідер з фільтром 450 нм і опційним референтним фільтром 620 нм (600-690 нм). Складний 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 Фармакопеї США (USP 26 – NF 21) та Європейської Фармакопеї (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 при температурі 2-8 °C/35-46 °F. 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, 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 (NaN₃) як консервант. NaN₃ може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN₃ 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 протягом 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:

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 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, контролі і зразки таким чином:

ПРИМІТКА: Якщо IgG і IgM визначаються паралельно, калібратори, контролі і зразки аналізувати по два рази, для кожного підкласу окремо.

Для **КІЛЬКІСНОЇ** інтерпретації

Для **ЯКІСНОЇ** інтерпретації


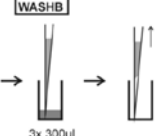


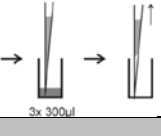




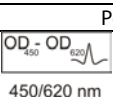
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	...	
H	Cal D	NC	...	

	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:
КОНТРОЛІ І ЗРАЗКИ	
3.	Внести в зазначені лунки, як описано в розділі 7.2 вище, 100 мкл кожного: а. Калібраторів (CAL.A до CAL.F) для КІЛЬКІСНОЇ або б. Cut-off калібратора (CC) для ЯКІСНОЇ інтерпретації і 100 мкл кожного з наступних: • Негативного контролю (NC) і • Позитивного контролю (PC), і • Розведеної сироватки пацієнта (P1, P2 ...)
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).
КОН'ЮГАТ	
6.	 Внести 100 мкл кон'югату в кожну 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).
СУБСТРАТ	
9.	 Внести 100 мкл ТМБ субстрату в кожну лунку.
10.	 Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищений від інтенсивного світла.
СТОП РОЗЧИН	
11.	 Внести 100 мкл стоп-розчину в кожну лунку, використовуючи той же порядок, що і при піпетуванні субстрату.
12.	 Витримати 5 хвилин мінімум.
13.	Ретельно струшувати пластину протягом 5 сек.
14.	 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 GPL/мл або MPL/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 GPL/мл або MPL/мл.

Нормальний діапазон	Сумнівний діапазон	Позитивні результати
< 12 GPL/мл	12-18 GPL/мл	> 18 GPL/мл
< 12 MPL/мл	12-18 MPL/мл	> 18 MPL/мл

Приклад стандартної кривої

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів

Калібратори IgG	OD 450/620 нм	CV % (Варіація)
0 GPL/мл	0.066	3.2
3 GPL/мл	0.162	0.4
10 GPL/мл	0.291	1.7
30 GPL/мл	0.597	1.3
100 GPL/мл	1.101	2.9
300 GPL/мл	2.039	0.4

Приклад розрахунку

Пацієнт	Дублікат (OD)	Середнє (OD)	Результат (GPL/мл)
P 01	0.722/0.752	0.762	48.8
P 02	1.058/1.038	1.048	82.9

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.

Негативний: OD пацієнта < 0.8 x OD Cut-off

Сумнівний: 0.8 x OD Cut-off ≤ OD пацієнта ≤ 1.2 x OD Cut-off

Позитивний: 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:	0-300 GPL/мл або MPL/мл
Аналітична чутливість:	
Кон'югат G	1.0 GPL/мл
Кон'югат M	0.97 MPL/мл
Зберігання:	при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони
Кількість визначень:	96 тестів

10 Робочі характеристики

10.1 Нормальний діапазон

Сироватки здорових донорів досліджували з набором AESKULISA Кардіоліпін-GM і отримали наступний розподіл:

Кон'югат G

Кількість зразків	негативний	невизначений	позитивний
144	142 (98.6 %)	2 (1.4 %)	0 (0 %)

Кон'югат M

Кількість зразків	негативний	невизначений	позитивний
144	144 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

Ми також рекомендуємо кожній лабораторії встановити свій власний нормальний діапазон.

10.2 Точність

Точність результатів випробувань, отриманих за допомогою AESKULISA Кардіоліпін-GM, Кат. № 3204, оцінювали за допомогою визначення точності в аналізі та між аналізами, а також варіативності між лотами шляхом аналізу безлічі зразків активності антитіл.

Кон'югат G

ID зразка	Точність в аналізі		Точність між аналізами		Варіативність між лотами	
	Середнє (GPL/мл)	CV, %	Середнє (GPL/мл)	CV, %	Середнє (GPL/мл)	CV, %
Зразок 1	2.7	10.0	2.7	17.6	3.0	12.8
Зразок 2	28.2	7.9	28.2	19.2	27.0	24.8
Зразок 3	63.3	6.8	63.3	13.6	66.4	12.5
Зразок 4	90.2	5.3	90.2	13.1	99.4	10.8
Зразок 5	101.3	4.6	101.3	14.2	113.0	10.2
Зразок 6	251.9	5.8	251.9	12.4	276.5	9.9

Кон'югат M

ID зразка	Точність в аналізі		Точність між аналізами		Варіативність між лотами	
	Середнє (MPL/мл)	CV, %	Середнє (MPL/мл)	CV, %	Середнє (MPL/мл)	CV, %
Зразок 1	15.6	4.5	15.6	7.7	12.9	16.8
Зразок 2	21.3	4.1	21.3	7.2	16.8	17.2
Зразок 3	35.5	4.6	35.5	8.4	31.5	11.7
Зразок 4	76.3	3.2	76.3	8.4	66.0	21.0
Зразок 5	77.5	2.9	77.5	8.5	70.4	12.9
Зразок 6	174.1	5.0	174.1	7.9	165.3	14.4

10.3 Специфічність і чутливість

Аналітична Чутливість

Аналітичну чутливість оцінювали шляхом багаторазового аналізу буфера для зразків і низьких позитивних зразків і обчислення межі виявлення.

Для AESKULISA Кардіоліпін-GM, Кат. № 3204, кон'югат G, **LoD становив 1.01 GPL/мл.**

Для AESKULISA Кардіоліпін-GM, Кат. № 3204, кон'югат M, **LoD становив 0.97 MPL/мл.**

10.4 Лінійність

Три сироватки, що охоплюють весь діапазон випробувань, були розведені серійно з негативним зразком сироватки. Виміряні і очікувані значення різних розведень використовували для розрахунку лінійної регресії. За результатами тестування лінійності для AESKULISA Кардіоліпін-GM визначили вимірюваний діапазон 3-300 GPL/мл або MPL/мл.

10.5 Калібрування

Через відсутність міжнародного еталонного калібрування цей аналіз відкалібрований проти контрольних сироваток від N.E. Харріс, Луїсвілл. Результати виражені в GPL/мл для IgG та MPL/мл для IgM. Крім того, AESKULISA Кардіоліпін-GM стандартизований з використанням Саппоро стандартів HCAL для IgG і EY2C9 для IgM.

Пояснення символів, що використовуються на маркуванні:

	Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i>
	Каталоговий номер
	Код партії
	СЕ маркування
	Національний знак відповідності
	96 тестів
	Ознайомлення з інструкціями для застосування
	Використати до
	Температурні обмеження (2-8 °C)

	Виробник
CO-CAL	Калібратор Cut-off
CON+	Позитивний контроль
CON-	Негативний контроль
CAL	Калібратор
RC	Відновлювач
CONJ	Кон'югат
MP	Мікропланшет
PINP	Планшет
WASHB 50x	Промивний буфер
SUB	Субстрат
STOP	Стоп розчин
SB 5x	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»
 вул. Чорновола, 97
 м. Івано-Франківськ, 76005
 тел.: +38 (0342) 775 122
 факс: +38 (0342) 775 123
 e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

