

# НАБІР ІФА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО ФОСФОЛІПІДІВ, GM, ПРОФІЛЬ

## 3234, Aeskulisa APS-Profile-GM

Кат. № : 3234 Методика від 28-08-2007  
Кількість : 96 Версія 002  
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 APS-Profile-GM** є твердофазним імуноферментним аналізом для роздільного якісного визначення IgG та/або IgM антитіл проти фосфоліпідів в сироватці крові людини. Аналіз використовує високо очищені людські Протромбін (Фактор II), Тромбін, Кардіоліпін, Фосфатидил-холін, -етаноламін, -інозитол, -серин і Сфінгомієлін. Аналіз є допомогою в діагностиці та оцінці ризику тромбозу у пацієнтів на системний червоний вовчак.

### 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, 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:

5x Буфер для зразків	1 флакон, 20 мл - 5x концентрований (білий ковпачок: жовтий розчин) Містить: Tris, NaCl, BSA, азид натрію <0,1% (консервант)
50x Промивний буфер	1 флакон, 20 мл - 50x концентрований (білий ковпачок: зелений розчин) Містить: Tris, NaCl, Твін 20, азид натрію <0,1% (консервант)

#### Готові до використання:

Негативний Контроль	2 флакона, 1,8 мл (зелений ковпачок: безколірний розчин) Містить: людську сироватку (розведену), азид натрію <0,1% (консервант)
Калібратор Cut-off	8 флаконів антиген-специфічних (A-N), 1,5 мл (білий ковпачок: жовтий розчин) Містить: людську сироватку (розведену), азид натрію <0,1% (консервант)
Кон'югати	1 флакон, 15 мл IgG (синій ковпачок: синій розчин) 1 флакон, 15 мл IgM (зелений ковпачок: зелений розчин) Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрому
Субстрат ТМВ	1 флакон, 15 мл (чорний ковпачок) Містить: стабілізований ТМВ/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Стоп Розчин	1 флакон, 15 мл (білий ковпачок: безбарвний розчин) Містить: 1 M соляної кислоти
Мікропланшет	12 x 8-лункових смужок, які відокремлюються Покриття див. пункт 1

### Необхідні матеріали, що не постачаються:

Планшетний рідер з фільтром 450 нм і опційним референтним фільтром 620 нм (600-690 нм). Скляний 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 протягом 1 місяця при температурі 4 °C, як мінімум. **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. 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, притримуйте 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<sub>3</sub>) як консервант. NaN<sub>3</sub> може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN<sub>3</sub> 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 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.

#### 5.2 Загальні зауваження щодо використання

Не змішуйте і не замінюйте 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 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 трьох днів 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).

### 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 рамки, помістити в пакет і зберігати разом з осушувачем. (2-8 °C/35-46 °F).

## 7.2 Проведення тестування

**Схема піпетування:** див. Додаток А, процедура випробування: див. Додаток В  
**Ми рекомендуємо піпетування зразків і калібраторів у двох примірниках.**  
**Калібратор Cut-off використовувати тільки для якісного аналізу.**

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

- Внесіть 100 мкл розведеної сироватки кожного пацієнта в призначені лунки.
- Внесіть 100 мкл Cut-off калібратора (A-H) і Негативного контролю в призначені лунки.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
- Вимийте 3x з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
- Внесіть 100 мкл кон'югату в кожну лунку.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
- Вимийте 3x з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
- Внесіть 100 мкл ТМБ субстрат в кожну лунку.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищеному від інтенсивного світла.
- Внесіть 100 мкл стоп розчину в кожну лунку, використовуючи той же порядок, як при піпетуванні субстрату.
- Інкубуйте 5 хвилин мінімум.
- Агітувати пластину ретельно протягом 5 сек.
- Зчитати абсорбцію при 450 нм (опційно 450/620 нм) протягом 30 хвилин.

## 8. Якісна Інтерпретація

Зчитати оптичну щільність Cut-off калібратора (A-H) і зразків пацієнтів. Помножити ОЩ Cut-off калібратора на коефіцієнт, специфічний для параметра, який зазначений у сертифікаті контролю якості. Порівняйте ОЩ пацієнтів з розрахунковим значенням ОЩ Cut-off. Для якісної інтерпретації ми рекомендуємо розглянути сироватки в межах 20% навколо значення Cut-off, як неоднозначні. Всі зразки з більш високим значенням ОЩ вважаються позитивними, зразки з більш низьким значенням ОЩ вважаються негативними.

APS-Profile	OD 450/620 нм
Негативний контроль	0.033
Калібратор Cut-off	0.5225

## Приклад інтерпретації

Ми рекомендуємо піпетування калібраторів паралельно для кожного запуску.

**Отримане:** OD Cut-off Калібратор **0.5225**  
(Кардіоліпін):

**Негативний:** OD пацієнта < 0.8 x OD Cut-off Параметр = 0.8 x 0.5225 = **0.418**

**Позитивний:** OD пацієнта > 1.2 x OD Cut-off Параметр = 1.2 x 0.5225 = **0.627**

**Сумнівний:** 0.418 ≤ OD пацієнта ≤ 0.627

№ ID	Зразок	Розрахунок OD	Інтерпретація
	OD Jo-1		
1	0.99	> 0.627	Позитивний
2	0.49	≥ 0.418 і ≤ 0.627	Сумнівний
3	0.27	< 0.418	Негативний

**Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів!**

Дані, характерні для конкретного лоту, знаходяться в листі контролю якості. Медичні лабораторії можуть проводити свій Контроль Якості використовуючи власні контроли і/або внутрішній пул сироваток, як це передбачено нормами ЄС.

Для **напівкількісного** визначення результатів кожне значення ОЩ пацієнта може бути виражене за допомогою індексу. Індекс обчислюється шляхом ділення значення ОЩ пацієнтів на ОЩ Cut-off:

Значення індексу = OD (зразок пацієнта) / OD (Cut-off параметр)

Негативний: OD пацієнта < 0.8

Сумнівний: 0.8 ≤ OD пацієнта ≤ 1.2

Позитивний: OD пацієнта > 1.2

## 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

**Зберігання:** при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони

**Кількість визначень:** 96 тестів

## 10. Дані продуктивності

### 10.1 Специфічність і чутливість

Мікропланшет покритий Протромбіном, Тромбіном, Кардіоліпіном, Фосфатидил-холіном, -етаноламіном, -інозитолом, -серіном і Сфінгомеліном. Перехресної реактивності з іншими аутоантигенами не було виявлено. До 50% вагітних з APS страждають від втрати плоду. Протромбін виявляє 84% з них. Оскільки Aeskulisa APS-Profile складається з різних антигенів, відомі значення чутливості і специфічності IgG перераховані в таблиці нижче.

	Sensitivity	Specificity
Cardiolipin	67%	73%
Phosphatidylserine	62%	83%
Phosphatidyl-Inositol	69%	75%
Ethanolamine	62%	78%
Choline	62%	79%

### 10.2 Лінійність

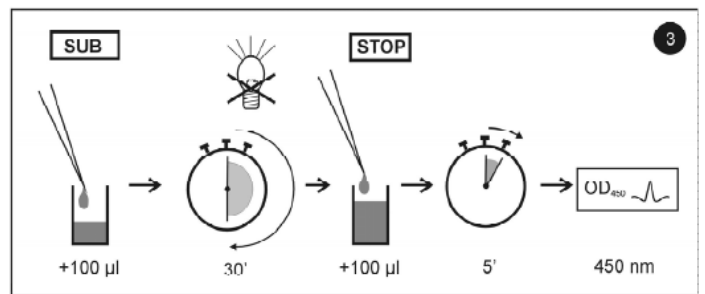
Обрані сироватки тестувались з цим набором і було встановлено лінійність розведення. Тим не менше, через неоднорідність характеру людських аутоантитіл можуть існувати зразки, що не підлягають цьому правилу.

№ Зразка	Фактор розведення	Виміряна концентрація (співвідношення OD)	Очікувана концентрація (співвідношення OD)	Відновлення (%)
1	1/100	7.40	7.50	98.7
	1/200	3.50	3.75	93.3

	1/400	1.75	1.88	93.1
	1/800	0.88	0.94	93.6
2	1/100	3.60	3.50	102.9
	1/200	1.71	1.75	97.7
	1/400	0.85	0.88	96.6
	1/800	0.43	0.44	97.7

### 10.3 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		
APS Profile	Mean OD Ratio	CV (%)
Prothrombin	2.4	3.1
Thrombin	1.8	2.8
Cardiolipin	1.5	1.5
Phosphatidyl-Choline	3.2	1.6
Phosphatidyl-Ethanolamine	3.5	1.9
Phosphatidyl-Inositol	3.1	2.2
Phosphatidyl-Serine	2.6	2.9
Sphingomyelin	2.1	3.1

Inter-Assay		
APS Profile	Mean OD Ratio	CV (%)
Prothrombin	2.8	2.8
Thrombin	1.5	3.1
Cardiolipin	1.3	3.6
Phosphatidyl-Choline	2.6	2.1
Phosphatidyl-Ethanolamine	2.9	3.5
Phosphatidyl-Inositol	4.1	2.6
Phosphatidyl-Serine	3.8	1.5
Sphingomyelin	3.6	2.4

### ДОДАТОК А: Схема піпетування

Ми пропонуємо піпетування калібраторів, контролів і зразків наступним чином:

Для кількісної інтерпретації використовувати калібратори, щоб побудувати стандартну криву.

Для якісної інтерпретації використовувати Cut-off калібратор.

Antigen		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Prothrombin	A	CCA	NC	P1	P2	P3	...						
Thrombin	B	CCB	NC	P1	P2	P3	...						
Cardiolipin	C	CCC	NC	P1	P2	P3	...						
P-cholin	D	CCD	NC	P1	P2	P3	...						
P-ethanolamin	E	CCE	NC	P1	P2	P3	...						
P-inositol	F	CCF	NC	P1	P2	P3	...						
P-serine	G	CCG	NC	P1	P2	P3	...						
Sphingomyelin	H	CCH	NC	P1	P2	P3	...						

CCA: калібратор Cut-off A, CCB: калібратор Cut-off B, CCC: калібратор Cut-off C, CCD: калібратор Cut-off D, CCE: калібратор Cut-off E, CCF: калібратор Cut-off F

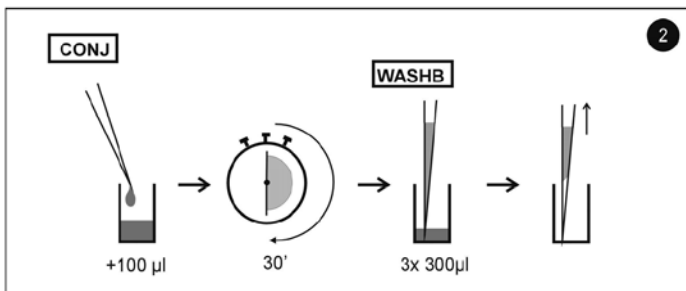
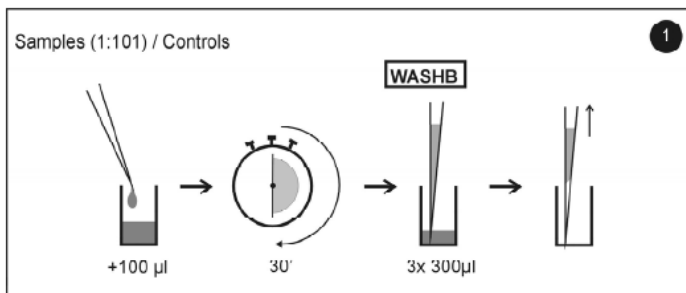
NC: негативний контроль

P1: пацієнт 1

P2: пацієнт 2

P3: пацієнт 3

### Додаток В: Процедура випробування



### Пояснення символів, що використовуються на маркуванні:

IVD	Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i>
REF	Каталоговий номер
LOT	Код партії
CE	СЕ маркування
↓	Національний знак відповідності
96	96 тестів
i	Ознайомлення з інструкціями для застосування
⌚	Використати до
2-8°C	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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)

