

НАБІР ІФА
ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО
ТИРОЗИНФОСФАТАЗИ ІА2

3602, Aeskulisa IA2

Кат. № : **3602**
Кількість : **96**
Виробник : **AESKU. Diagnostics,**
(Німеччина)

Методика від **18-06-2015**
Версія **005**



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 IA2 є твердофазним імуноферментним аналізом з використанням рекомбінантного білка острівцевого антигена 2 (IA2) людини, пов'язаного з тирозин-фосфатазою, для кількісного та якісного визначення антитіл проти IA2 людини в сироватці крові людини. Аналіз є інструментом в діагностиці цукрового діабету 1 типу.

2. Клінічне застосування і принцип аналізу (Див. оригінал інструкції).

Принцип тесту

Зразки сироватки, розбавлені 1:4, інкубують в мікропланшетах з внесенням специфічного антигена на протязі ночі. Антитіла пацієнта, якщо вони присутні в зразку, зв'язуються з антигеном. Після цього біотинильований IA2 інкубують. Під час цієї стадії аутоантитіла IA2 формують зв'язок між IA-2, іммобілізованими на пластині, і IA-2 Біотину в рідкій фазі. Незв'язана фракція вимивається на наступній стадії. Кількість зв'язаного IA2 біотину потім визначається додаванням стрептавідин-пероксидази (кон'югату), який зв'язується з біотином. 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 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 Тріс, NaCl, BSA, азид натрію < 0.1% (консервант) |
| Промивний буфер (50x) | 1 x 20 мл | Білий | Зелений | 50 x концентрований Тріс, NaCl, Твін 20, азид натрію < 0.1% (консервант) |
| Біотин IA2 | 3 флакона | Білий | - | Біотин, кон'югований з рекомбінантним IA2 людини; бичачий сироватковий альбумін (BSA), ліофілізований |
| ГОТОВІ ДО ВИКОРИСТАННЯ | | | | |
| Компонент | Кількість | Колір ковпачка | Колір розчину | Опис/вміст |
| Буфер для відновлення | 1 x 20 мл | Червоний | Червоний | PBS, бичачий сироватковий альбумін (BSA) |
| Негативний Контроль | 1 x 1 мл | Зелений | Безколірний | Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант) |
| Позитивний Контроль | 1 x 1 мл | Червоний | Жовтий | Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант) |
| Калібратор Cut-off | 1 x 1 мл | Синій | Жовтий | Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант) |
| Калібратори | 6 x 1 мл | Білий | Жовтий* | Концентрація кожного |

| | | | | |
|--------------|------------------------|--------|-------------|---|
| | | | | калібратора: 0, 25, 75, 125, 250, 500 МОд/мл. Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію < 0.1% (консервант) |
| Кон'югат | 1 x 15мл | Синій | Синій | Стрептавідин, в поєднанні з пероксидазою хрому; бичачий сироватковий альбумін (BSA) |
| Субстрат ТМВ | 1 x 15мл | Чорний | Безколірний | Стабілізований ТМВ/H ₂ O ₂ |
| Стоп Розчин | 1 x 15мл | Білий | Безколірний | 1 М соляної кислоти |
| Мікропланшет | 12 x 8-лункових смужок | -- | -- | Смужки, які відокремлюються Покрыття 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). 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. Відновлений IA2 Біотин має бути використаний в день відновлення. 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 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, притримуйтеся 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 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 надавайте 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 базуватися на результатах тільки проведеного тесту, але повинен бути зроблений лікарем після того, як всі клінічні і лабораторні результати були оцінені. 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 48 годин і замороженими при -20 °C/-4 °F для більш тривалих періодів.

7. Процедура аналізу

7.1 Підготовчі заходи перед піпетуванням

Будь ласка, майте на увазі, що повинні бути підготовлені тільки реагенти, які будуть використовуватися в той же день!

Розвести концентровані буфери:

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 помічати ковпачки різних калібраторів.

Зразки:

Розвести зразки сироватки 1:4 буфером для зразка (1x)
Наприклад, 225 мкл буфера для зразків (1x) + 75 мкл сироватки. Добре перемішати!

Відновити і розбавити Біотин IA2:

Відновити ліофілізований Біотин IA2 в два етапи: По-перше, додати 1 мл буфера для відновлення в один флакон, дати постояти 5 хвилин і перемішати до тих пір, поки Біотин IA2 повністю не розчиниться. Переконайтеся, що в ковпачку не залишилося ліофілізованого або відновленого Біотину IA2. На другому етапі, перемістити 1 мл відновленого Біотину IA2 до 5 мл буфера для відновлення і добре перемішати.

Один флакон відновленого Біотину IA2 є достатнім для шести смужок. Якщо більше смужок буде використовуватися в одному тесті, два флакони ліофілізованого Біотину IA2 повинні бути відновлені і розведені, як описано вище, а потім поєднані. Все 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, контролю і зразки таким чином:

Для КІЛЬКІСНОЇ 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 | ... | |




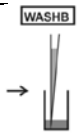


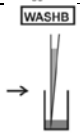


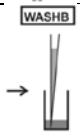

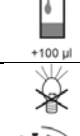
CalA: калібратор A
CalB: калібратор B
CalC: калібратор C
CalD: калібратор D
CalE: калібратор E
CalF: калібратор F


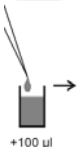

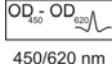
Для ЯКІСНОЇ інтерпретації

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

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. |  <p>Внести в зазначені лунки, як описано в розділі 7.2 вище, 100 мкл кожного:</p> <p>a. Калібраторів (CAL.A до CAL.F) для КІЛЬКІСНОЇ або</p> <p>b. Cut-off калібратора (CC) для ЯКІСНОЇ інтерпретації і 100 мкл кожного з наступних:</p> <ul style="list-style-type: none"> Негативного контролю (NC) і Позитивного контролю (PC), і Розведеної сироватки пацієнта (P1, P2 ...) |
| 4. |  <p>Накрити планшет. Інкубувати протягом 16-20 годин при 2-8 °C/35-46 °F.</p> |
| 5. |  <p>Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.</p> |
| 6. |  <p>Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).</p> |
| БІОТИН IA2 | |
| 7. |  <p>Внести 100 мкл розчину Біотину IA2 (як описано в главі 7.1 вище) в кожну лунку.</p> |
| 8. |  <p>Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.</p> |
| 9. |  <p>Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).</p> |
| КОН'ЮГАТ | |
| 10. |  <p>Внести 100 мкл кон'югату в кожну лунку.</p> |
| 11. |  <p>Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.</p> |
| 12. |  <p>Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).</p> |
| СУБСТРАТ | |
| 13. |  <p>Внести 100 мкл ТМБ субстрату в кожну лунку.</p> |
| 14. |  <p>Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищений від інтенсивного світла.</p> |
| СТОП РОЗЧИН | |

| | | |
|-----|---|---|
| 15. |   | Внести 100 мкл стоп-розчину в кожну лунку, використовуючи той же порядок, що і при піпетуванні субстрату. |
| 16. |  | Витримати 5 хвилин мінімум. |
| 17. | | Ретельно струшувати пластину протягом 5 сек. |
| 18. |  | 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 **Од/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 **Од/мл**.

| Нормальний діапазон | Позитивні результати |
|---------------------|----------------------|
| < 30 Од/мл | > 30 Од/мл |

Приклад стандартної кривої

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів

| Калібратори IgG | OD 450/620 нм | CV % (Варіація) |
|-----------------|---------------|-----------------|
| 0 МОд/мл | 0.075 | 7.8 |
| 25 МОд/мл | 0.218 | 6.4 |
| 75 МОд/мл | 0.474 | 4.2 |
| 125 МОд/мл | 0.782 | 2.2 |
| 250 МОд/мл | 1.45 | 4.3 |
| 500 МОд/мл | 2.345 | 1.5 |

Приклад розрахунку

| Пацієнт | Дублікат (OD) | Середнє (OD) | Результат (Од/мл) |
|---------|---------------|--------------|-------------------|
| P 01 | 0.808/0.831 | 0.820 | 130.5 |
| P 02 | 1.081/1.071 | 1.076 | 168.1 |

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 недейсним 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. Всі зразки з більш високим OD вважаються позитивними, зразки з більш низькими OD вважаються негативними.

Негативний: OD пацієнта < OD Cut-off
Позитивний: OD пацієнта > OD Cut-off

9. Технічні дані

Матеріал зразка: сироватка
Об'єм зразка: 75 мкл зразка, розведеного 1:4 в 1х буфері для зразків
Загальний час інкубації: 16-20 годин при температурі 2-8 °C/35-46 °F і 90 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F
Діапазон калібрування: 0-500 МОд/мл
Аналітична чутливість: 1 МОд/мл

Зберігання:

при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони
96 тестів

Кількість визначень:

10. Дані продуктивності

10.1 Аналітична Чутливість

Межа виявлення
Тестування буфера для зразків 60 разів на Aeskulisa IA2 та 8 низько негативних зразків 8 разів дало межу виявлення 1 МОд/мл.

10.2 Специфічність і Чутливість

Мікропланшет покритий рекомбінантним IA2 людини. Перехресної реактивності з іншими аутоантигенами не було виявлено. Діагностична специфічність антитіл IA2 становить 99%. Діагностична чутливість до 70%.

10.3 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 (МОд/мл) | Очікувана концентрація (МОд/мл) | Відновлення (%) |
|----------|-------------------|--------------------------------|---------------------------------|-----------------|
| 1 | 1/4 | 224.45 | 220 | 102.02 |
| | 1/8 | 119.735 | 110 | 108.85 |
| | 1/16 | 54.2515 | 55 | 98.64 |
| 2 | 1/32 | 26.9105 | 27.5 | 97.86 |
| | 1/4 | 89.542 | 90 | 99.49 |
| | 1/8 | 44.0575 | 45 | 97.91 |
| | 1/16 | 21.0935 | 22.5 | 93.75 |
| | 1/32 | 11.3045 | 11.25 | 100.48 |

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 (IU/ml) | CV (%) |
| 1 | 8.68 | 15.7 |
| 2 | 30.34 | 5.2 |
| 3 | 54.02 | 9.8 |
| 4 | 181.90 | 4.5 |
| 5 | 212.16 | 3.6 |

| Inter-Assay | | |
|-------------|--------------|--------|
| Sample No. | Mean (IU/ml) | CV (%) |
| 1 | 8.68 | 18.6 |
| 2 | 30.34 | 6.0 |
| 3 | 54.02 | 13.7 |
| 4 | 181.90 | 4.6 |
| 5 | 212.16 | 7.3 |

10.5 Калібрування

AESKULISA IA2 калібрується проти еталонного реагенту BOO3 NIBSC код 97/550.

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 |
|  | Калібратор Cut-off |
|  | Позитивний контроль |
|  | Негативний контроль |
|  | Калібратор |
|  | 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

