НАБІР ІФА

ДЛЯ ЯКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ IgG АНТИТІЛ ПРОТИ НУКЛЕОСОМ, дсДНК, ГІСТОНІВ, SmD1, U1-snRNP, SS-A/Ro60кДа, SS-A/Ro52кДа, SS-B/La, SCL-70, CENP-B, Jo-1 І РИБОСОМАЛЬНОГО БІЛКА P (Rib-P0)

4000, Aeskublot ANA-12 Pro

*Каталог. №: **4000*** *Методика від **28-02-2013***
*Кількість : **24*** *Версія **005***
*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
AESKUBLOT ANA-12 Pro – це мембранний імуноферментний аналіз для якісного виявлення IgG антитіл проти нуклеосом, дсДНК, гістонів, SmD1, U1-snRNP, SS-A/Ro60кДа, SS-A/Ro52кДа, SS-B/La, SCL-70, CENP-B, Jo-1 і рибосомального білка P (Rib-P0) в сироватці або плазмі людини. Антигени розміщені паралельними лініями в точно визначених позиціях на нітроцелюлозній мембрані.
Аналіз є інструментом в диференціальній діагностиці системних ревматичних захворювань.

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

Принцип тесту
Антигени наносяться лініями на нітроцелюлозну мембрану. Мембрана заблокована, щоб запобігти неспецифічним реакціям. Мембранні смужки зі специфічними антигенами в точно визначених позиціях інкубують в зразках сироватки/плазми розведеними 1:101. 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 хрону (кон'югат) інкубують і вступають в реакцію з комплексом антиген-антитіло зразків. Незв'язаний кон'югат вимивається в наступному кроці. Після додавання TMB-субстрату він перетвориться за допомогою ферментативної реакції на блакитний осад. Реакцію зупиняють за допомогою дистильованої води.

3 Комплект поставки

МАЮТЬ БУТИ ВІДНОВЛЕНІ				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Блокуючий реагент	3 x 10 мл концентрат кожен	Білий	N/A	Порошок знежиреного сухого молока для приготування 3×10 мл буфера для зразків
Промивний буфер (50x)	1 x 50 мл	Білий	Безколірний	20 x концентрат для приготування 1 л. Tpic буфер, pH 6.9 ± 0.2
ГОТОВІ ДО ВИКОРИСТАННЯ				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Кон'югат, IgG	1 x 10 мл	Синій	Безколірний	Містить: Анти-імуноглобулін G (IgG) людини, кон'югований з пероксидазою хрону
Субстрат ТМБ	1 x 10 мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований TMB/H_2O_2
Мембранні смужки	24 смужки	Кольорове кодування: жовтий	N/A	Покриті антигени див. призначення використання
пінцет, референт-ний шаблон, листок результатів, клеюча смужка (двостороння, чорна)	по 1 шт. кожного	N/A	N/A	N/A
Інкубаційний лоток	3 шт.	N/A	N/A	N/A
Етикетки для буфера зразків	3 шт.	N/A	N/A	N/A
НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ				
Хитна платформа, циліндр 1000 мл, піпетка або циліндр на 10 мл, піпетки прецизійні (10, 1000 мкл), абсорбуючий або фільтрувальний 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 мембранні смужки при температурі 2-8 °C/35-46 °F, в оригінальній упаковці. Готові, відновлені розчини стабільні протягом 6 тижнів при температурі 2-8 °C/35-46 °F, як мінімум. Реагенти і мембранні смужки повинні використовуватися тільки в межах терміну придатності, зазначеного на кожному компоненті. Уникайте інтенсивного впливу світла на TMB розчин.

5 Запобіжні заходи у використанні і Загальні відомості

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.

Субстрат містить катон (1% об/об) як консервант. Не ковтати, не допускати контакту зі шкірою або слизовими оболонками.

Не паліть, не їжте і не пийте під час роботи з набором. Не піпетувати ротом.

Поводитись зі зразками пацієнтів як з потенційним джерелом інфекційних захворювань і відповідно до національних вимог.

5.2 Загальні зауваження щодо використання
Щоб диференціювати між різними **AESKUBLOT** доступними тестами, застосовується колірне кодування над референсною лінією смужок:

Колірне кодування	AESKUBLOT
жовтий	ANA-12 Pro
помаранчевий	ANA-17 Pro
синій	Міозит Pro
коричневий	Печінка Pro
фіолетовий	Васкуліт Pro
чорний	Шлунковий Pro
зелений	Borrelia-G і Borrelia-M

У разі, якщо інформація про продукт, в тому числі маркування, є спотвореною або неправильною, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тест-набору.
Блокуючий Реагент та промивний буфер можуть бути взаємозамінними між лотами і тестовими наборами. Всі інші компоненти є специфічними для кожного тест-набору і не є взаємозамінними. Не міняйте компоненти між реагентами діагностичних тестів аутоімунних хвороб і Borrelia діагностичними тестами!
При роботі з кон'югатом не використовувати посуд з полістиролу.
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.
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.

Інтенсивність кольору полоски не обов'язково корелює з титрами антитіл, отриманих іншими референсними методологіями.
Зразки від очевидно нормальних донорів крові можуть містити аутоантитіла.
Якщо зразок пацієнта містить підвищені рівні імунних комплексів та інших агрегатів імуноглобулінів, помилкові позитивні результати від неспецифічного зв'язування не можуть бути виключені.
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.

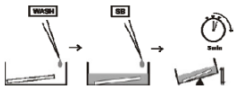
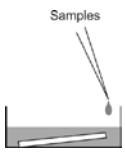
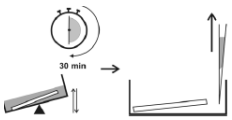
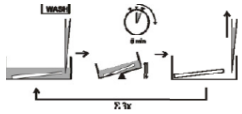
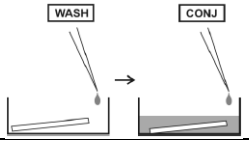
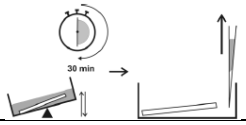
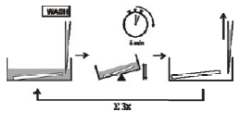
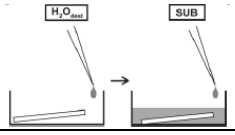
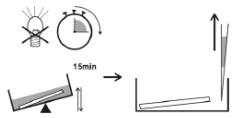
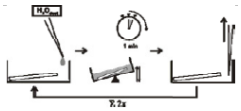
6 Відбір проб, Використання та Зберігання
Використовуйте переважно зібрані нещодавно зразки сироватки/плазми. Забір крові повинен проводитись відповідно до державних вимог. Не використовуйте іктеричні, ліпемічні, гемолізовані або бактеріально забруднені зразки. Сироватка з частинками повинна бути очищена центрифугуванням з низькою швидкістю (<1000 x g). Зразки крові повинні бути зібрані в чисті, сухі і порожні пробірки.
Після сепарації, зразки сироватки слід використовувати на протязі 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. Уникайте повторного відтавання і заморозки. Не використовуйте інактивовані теплом зразки.

7 Процедура аналізу

7.1 Підготовчі заходи перед початком роботи
Переконайтеся, що немає кристалів солі, сформованих в концентраті. Якщо це сталося, розчиніть кристали легким нагріванням концентрату, температура в приміщенні повинна бути достатньою. Розведіть концентрований промивний буфер 1:20 дистильованою водою (наприклад, 950 мл плюс 50 мл).
Для підготовки буфера для зразків: додати 10 мл промивного буфера до одного флакона Блокуючого Реагенту і добре перемішати.

7.2 Схема Піпетування
Важливі зауваження:
Точно дотримуйтесь даного протоколу. Переконайтеся, що два згаданих у протоколі компоненти додаються в лоток в кроці 2, 6, 9.
Не дозволяйте смужці висохнути протягом інкубації.
Не торкайтеся пальцями смужки, використовуйте пінцет.
Видаліть розбавлені зразки повністю після інкубації смужки, щоб уникнути перенесення забруднення.
Постійно стушуйте смужку під час інкубації.
Розмістіть буфер для зразків, кон'югат і субстрат разом з промивним буфером на одній стороні інкубаційного лотка. Не допускайте перетікання на смужку.

7.3 Проведення тестування

Крок	*Опис*
1.	Переконайтеся, що підготовка відповідно до пункту 7.1 вище була проведена перед початком тесту.
2.	 Покладіть смужку в правильному напрямку в інкубаційний лоток (референсна лінія і колірне кодування вгорі). Додайте 700 мкл промивного буфера і 300 мкл буфера для зразків в інкубаційний лоток. Змочіть смужку в розчині і інкубуйте протягом 5 хвилин при перемішуванні.
КОНТРОЛІ І ЗРАЗКИ	
3.	 Внести 10 мкл зразка сироватки/плазми в спеціальні інкубаційні лотки з буфером для зразків.
4.	 Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F при перемішуванні. Після цього видалити зразок повністю.
5.	 Промити 3 рази по 5 хвилин з 1.5 мл промивного буфера перемішуванням. Видаляти промивний буфер після кожного кроку промивання.
КОН'ЮГАТ	
6.	 Внести 700 мкл промивного буфера і 300 мкл кон'югату в кожен інкубаційний лоток зі смужкою.
7.	 Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F при перемішуванні. Видалити кон'югат.
8.	 Промити 3 рази по 5 хвилин з 1.5 мл промивного буфера перемішуванням. Видаляти промивний буфер після кожного кроку промивання.
СУБСТРАТ	
9.	 Внести 700 мкл dH_2O і 300 мкл субстрату в кожен інкубаційний лоток зі смужкою.
10.	 Інкубувати протягом 15 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F при перемішуванні захищений від інтенсивного світла. Видалити субстрат.
СТОП РОЗЧИН	
11.	 Внести 2 мл dH_2O в кожен інкубаційний лоток зі смужкою. Витримайте 1 хвилину при перемішуванні. Видалити dH_2O. Повторити цей крок ще один раз.
12.	Видалити смужку інкубаційного лотка. Висушити смужку між фільтрувальним папером.
13.	Провести аналіз результатів протягом 24 годин.

8 Якісна Інтерпретація
8.1 Керівництво по проведенню аналізу
Результати випробувань можуть вважатися дійсними, якщо:
- Функціональний контроль є видимим
- Контроль Cut-off є видимим
- Інтенсивність кольору Cut-off контролю слабкіше, ніж інтенсивність кольору функціонального контролю

Розмістіть висушену смужку на аркуші результатів в одну лінію з референсною. Поєднайте референсний шаблон з референсною лінією смужки. Інтерпретуйте результати тільки по відношенню до контролю Cut-off кожної смужки.
Кожен тестовий набір містить кольорову копію з усіма доказовими смужками в тесті.
Аналіз проводиться шляхом порівняння інтенсивності кольору смужок з інтенсивністю кольору контролю Cut-off. Тест є двозначним, якщо інтенсивність не відрізняється значно. Якщо інтенсивність кольору висока, тест позитивний, якщо інтенсивність кольору слабка, тест негативний.
Результати можуть бути записані на аркуші результатів.
У випадку, що значення контролів не відповідають критеріям, тест є недійсним і повинен бути повторений. Ми рекомендуємо повторне тестування зразків, які є двозначними.
Наступні технічні питання повинні також бути перевірені: дата закінчення терміну придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, обладнання, умови інкубації і методи промивки.
Якщо зразки, які тестуються, показують значення, що відхиляються, або, якщо критерії перевірки не виконуються через фактори поза межами відповідальності оператора, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тестового набору.
Медичні лабораторії можуть виконувати контроль якості в лабораторії за допомогою своїх власних контролів та/або внутрішнього пулу сироваток, як зазначено в національних правилах.

9 Технічні дані

Матеріал зразка:	сироватка або плазма
Об'єм зразка:	10 мкл зразка
Загальний час інкубації:	112 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F
Зберігання:	при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони
Кількість визначень**:**	24 тести

10 Робочі характеристики

10.1 Відносна чутливість та специфічність

Для того, щоб визначити позитивну узгодженість (відносна чутливість), 85 сироваток від IIF або ELISA антитіла-позитивних пацієнтів були випробувані з набором **AESKUBLOT ANA-12 Pro.** Для визначення негативної узгодженості (відносна специфічність), 100 сироваток від донорів крові були проаналізовані.

	Негативна узгодженість (відносна специфічність)		Позитивна узгодженість (відносна чутливість)	
	У %	Абсолютне значення	У %	Абсолютне значення
нуклеосоми	100%	100/100	100 %	10/10
дсДНК	100 %	100/100	100 %	12/12
гістони	100 %	100/100	94 %	17/18
SmD1	100 %	100/100	100 %	15/15
U1-snRNP	98 %	98/100	100 %	16/16
SS-A/Ro60кДа	100 %	100/100	100 %	28/28
SS-A/Ro52кДа	96%	100/100	100 %	23/23
SS-B/La	100 %	100/100	100 %	14/14
SCL-70	100 %	100/100	100 %	12/12
CENP-B	100 %	100/100	100 %	20/20
Jo-1	100 %	100/100	100 %	10/10
Rib-P0	100 %	100/100	100 %	7/7

ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

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

© Переклад на українську мову ТОВ «ДІАМЕБ»