



## Набор для определения КАРДИОЛИПИНА IgG

### Cardioliipin IgG ELISA

**Кат. №** : 1491Z  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DAI (USA)

**Внимание:** основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

Методика 30-11-2010

Анализ	Cardioliipin IgG ELISA
Метод	Твердофазный иммуноферментный анализ
Принцип	ИФА-непрямой, Планшет, покрытый антигеном
Диапазон обнаружения	6,3-200 г/л
Образец	100 мкл сыворотки
Специфичность	100%
Чувствительность	10 г/л
Общее время	~90 мин
Срок годности	12 месяцев

*Результаты лабораторного исследования не могут быть основой медицинского заключения. Необходимо принимать во внимание историю болезни пациента и последующие анализы.*

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для обнаружения и полуквантитативного определения IgG антител к кардиолипину в сыворотке или плазме человека. Анализ используется для определения антител в одном образце сыворотки. Результаты используются в целях диагностики анти-фосфолипидного синдрома у пациентов с аутоиммунным заболеванием.

#### ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ И ОБЪЯСНЕНИЕ МЕТОДА

Аутоантитела кардиолипина (АСА) часто обнаруживают у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ), а также у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями и у некоторых людей, не страдавших ранее от основных заболеваний. Повышение уровня АСА связывают с наличием венозного и артериального тромбоза, тромбоцитопении и повторных выкидышей. Антифосфолипидный синдром использовался для описания пациентов, у которых наблюдались данные клинические проявления заболевания, в сочетании с АСА и волчаночным антикоагулянтом.

АСА встречается в иммуноглобулинах класса IgG, IgM и IgA. Определение антител IgM является важным показателем при диагностировании начинающейся аутоиммунной болезни, тогда как наличие антител IgG будет свидетельствовать о прогрессирующей стадии аутоиммунных расстройств. АСА IgG демонстрируют тесную взаимосвязь с клиническим состоянием

пациента с тромбозом, тромбоцитопенией, выкидышем и некоторыми неврологическими расстройствами. АСА IgA часто ассоциируются с антителами IgG. АСА IgA проявляют большую достоверность при тромбозе и выкидыше.

Анализ на АСА разных изотипов ИФА-методом помогает при диагностировании антифосфолипидного синдрома у пациентов с СКВ и волчаночноподобными расстройствами.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА.

Очищенные антигены кардиолипина наносятся на поверхность микролунок. Если присутствуют специфические антитела к антикардиолипину, они связываются с антигеном. Несвязанный материал вымывается. После добавления ферментного конъюгата он связывается с комплексом антитело-антиген. Избыток ферментного конъюгата вымывается, добавляется хромоген субстрат ТМБ. В определенное время каталитическая реакция фермент-конъюгат останавливается. Интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна количеству специфических антител в образце.

Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются параллельно с калибраторами.

#### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8°C.
2. После вскрытия пакета оставшиеся покрытые лунки необходимо немедленно поместить в запечатанный пакет с осушителем. Рекомендуется использовать лунки на протяжении 30 дней.
3. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности.
4. Все реагенты необходимо хранить и использовать вдали от света, тепла и солнца.

#### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы можно хранить до 7 дней при 2-8°C, или до полугода в замороженном виде. Избегайте многократных циклов замораживания / размораживания.

#### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Микролуночные стрипы:** лунки, покрытые антигеном кардиолипина: 12 × 8 лунок
2. **Разбавитель образца:** 1 бут., 50 мл. раствор желтого цвета.
3. **Моющий буфер** (10x концентрат): 1 бут., 100 мл.
4. **Хромоген/Субстрат раствор:** 1бут., 12 мл. янтарный флакон
5. **Ферментный конъюгат:** 1бут., 12 мл., раствор красного цвета.
6. **Набор калибраторов** (1:101 предварительно разбавленные) 6,3, 12,5, 25, 50, 100, 200 GPL. 1 мл / флакон
7. **Набор калибраторов** (1:101 предварительно разбавленные) Отрицательный и положительный контроли. Реагенты указаны на этикетках. 1 мл/флакон.
8. **Стоп раствор:** 1 бут, 12 мл.

#### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

• Потенциально опасные материалы:  
 Калибраторы и контроли содержат компоненты человеческого происхождения, которые тестировались реагентами, лицензированными FDA, и оказались нереактивными к поверхностному антигену гепатита В и антителам ВИЧ. Однако, ни один из известных методов

Не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами на уровне биологической безопасности 2, как рекомендуется Центром контроля заболеваний / Национальные Институты Здоровья, "Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях", 1984.

- Не пипетируйте ртом. Нельзя есть, пить и пользоваться косметикой в месте, где используются реагенты.
- Не смешивайте компоненты разных лотов и изготовителей.
- Некоторые реагенты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид может реагировать со свинцом и медью и формировать взрывоопасные вещества. При выбрасывании промойте большим количеством воды.
- Избегайте контакта с следующих реагентов с кожей или слизистыми оболочками: ферментный конъюгат, субстрат ТМБ, стоп-раствор.

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ

1. Приготовление 1х моющего буфера  
Приготовьте промывочный буфер, разбавив 10× промывочный концентрат дистиллированной или / и неионизированной водой, чтоб получить в конечном итоге объем 1л.
2. Перед использованием привести все реагенты к комнатной температуре (20-25°C) и слегка взмешать.

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Установите необходимое количество привитых стрипов в держатель.  
Предварительно промойте микропланшетные лунки – Повторите промывание три раза моющим буфером.
2. Приготовьте 1:101 разбавление тестового образца добавлением 5 мкл образца в 500 мкл разбавителя образцов. Тщательно смешайте.  
Не разбавляйте 1:101 предварительно разбавленных Калибраторов и Контролей.
3. В соответственные лунки внести 100 мкл предварительно разбавленных образцов, калибраторов и контролей. Постучите по держателю, чтоб удалить воздушные пузырьки из жидкости и хорошо смешайте. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.
4. Удалите жидкость из лунок. Повторите промывание три раза моющим буфером.
5. Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую лунку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
6. Удалите ферментный конъюгат из лунок. Повторите промывание три раза моющим буфером.
7. Добавьте 100 мкл раствора хромоген / субстрата в каждую лунку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
8. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора. Перед считыванием убедитесь что в ячейках нету воздушных пузырьков.
9. Считайте ОП микропланшетным ридером при 450 нм.

#### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Постройте стандартную кривую, откладывая ОП 450нм на оси y напротив концентрации калибратора GPL на оси x на специальной бумаге.

2. Используя значение ОП каждого образца, определите концентрацию из стандартной кривой.
3. Типичный пример см в оригинале инструкции.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Контроли должны использоваться при каждом тесте и концентрация должна отвечать диапазону, указанному на этикетке.
2. Средняя ОП для 0 GPL калибратора должна быть < 0,150, а средняя ОП для 200 GPL калибратора должна быть >0,750.

Дополнительные контроли можно приготовить с образцов человеческой сыворотки и хранить при -20 °C.

#### ИНТЕРПРИТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Негативный < 10 GPL

Низко позитивный 10-19 GPL

Средне позитивный 20-79 GPL

Высоко позитивный > 80 GPL

#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Повышенные уровни АСА, хоть и редко, но все же наблюдаются у обычного населения. Тем не менее, несколько аутоиммунных и инфекционных заболеваний могут стать результатом временного или хронического возрастания АСА.

Повышенные уровни АСА наблюдались при SLE, ревматоидном артрите, туберкулезе, синдроме Бецета и других болезнях.

Уровень нормальных значений АСА может меняться от населения к населению.

#### Гистограмма

60 случайных нормальных образцов пациента определялись данным набором. Результаты полученных средних значений 1,4 GPL. SD=0,736.  
См в оригинале инструкции гистограмму 60 образцов.

#### ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. Подобно другим серологическим анализам, результаты данного теста должны использоваться совместно с результатами иных диагностических процедур, принимая во внимание клиническую картину пациента в целом.
2. Хотя АСА ассоциировался с определенным множеством SLE, клиническая важность АСА и SLE и других болезней остается под исследованием.

#### ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

##### Чувствительность, специфичность и точность

72 образца из разных источников были проанализированы этим набором относительно коммерческого ELISA набора. В таблице в оригинале инструкции суммированы все данные.

Относительная чувствительность = 60%

Относительная специфичность = 100 %

Согласование =75%

##### Перекрестная реактивность

Проводилось изучение для определения перекрестной реактивности антител АСА этого набора и других антител. Не было найдено перекрестной реактивности против IgG позитивных образцов Рубеллы, CMV, HSV, EBV-VCA, Toxo, DS-DNA, Chlamidia trachomatis, ANA, Dengue and RF IgM.

**Точность**

Таблички смотрите в оригинале инструкции.

**Информация для заказа:**

ЧМП «ДИАМЕБ»  
ул. Чорновола 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: (0342) 775 122 , факс: (0342) 775612  
е-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)