

# НАБОР ИФА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ТИРЕОПЕРОКСИДАЗЕ В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ

## EIA-3587, Anti Cardiolipin IgG/IgM ELISA

Каталог. № : EIA-3587  
Количество : 96  
Производитель: DRG (США)

Методика от 03-2015  
Версия 4.0



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

### 1 НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный набор является непрямым иммуоферментным анализом (ELISA) твердой фазы для количественного измерения антител класса IgG и IgM к Кардиолипину в сыворотке или плазме человека. Анализ предназначен только для экстракорпорального диагностического использования in-Vitro.

### 2 ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Высокоочищенный Кардиолипин нанесен в лунки, насыщенные β2-гликопротеином I. Определение основано на не прямой ферментно-связанной реакции со следующими шагами:

Антитела к этим антигенам, если они присутствуют в сыворотке или плазме, связываются с соответствующим антигеном. Промывка лунок удаляет неспецифические компоненты сыворотки и плазмы. Peroксидаза хрена (HRP), конъюгированная с анти-человеческими IgG и IgM, иммунологически обнаруживает связанные антитела пациента, формируя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Промывка лунок удаляет несвязанный конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связанного конъюгата гидролизует с образованием синей окраски. Добавление кислоты останавливает реакцию с образованием желтого конечного продукта. Интенсивность этого желтого цвета измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации антител IgG и IgM соответственно, присутствующих в исходном образце.

### 4 КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

#### Кол-во определений - 96

1	Делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок каждый. Готов к использованию.
1 x 1.5 мл	<b>Калибратор А</b> 0 GPL-Ед/мл/0 MPL-Ед/мл, содержит сывороточную/буферную матрицу (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию.
1 x 1.5 мл	<b>Калибратор В</b> 7.5 GPL-Ед/мл/5 MPL-Ед/мл, содержит антитела кардиолипина в сывороточной/буферной матрице (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию.
1 x 1.5 мл	<b>Калибратор С</b> 15 GPL-Ед/мл/10 MPL-Ед/мл, содержит антитела кардиолипина в сывороточной/буферной матрице (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию.
1 x 1.5 мл	<b>Калибратор D</b> 30 GPL-Ед/мл/20 MPL-Ед/мл, содержит антитела кардиолипина в сывороточной/буферной матрице (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию.
1 x 1.5 мл	<b>Калибратор E</b> 60 GPL-Ед/мл/40 MPL-Ед/мл, содержит антитела кардиолипина в сывороточной/буферной матрице (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию.
1 x 1.5 мл	<b>Калибратор F</b> 120 GPL-Ед/мл/80 MPL-Ед/мл, содержит антитела кардиолипина в сывороточной/буферной матрице (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию.
1 x 1.5 мл	<b>Контроль положительный</b> , содержит антитела кардиолипина в сывороточной/буферной матрице (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию. Соответствующие концентрации указаны в QC.
1 x 1.5 мл	<b>Контроль отрицательный</b> , содержит антитела кардиолипина в сывороточной/буферной матрице (PBS, БСА, детергент, NaN <sub>3</sub> 0.09%), желтый. Готов к использованию. Соответствующие концентрации указаны в QC.
20 мл	<b>Буфер для образцов</b> , содержит PBS, БСА, детергент, консервант азид натрия 0.09%, желтый, концентрат (5х).
15 мл	<b>Ферментный конъюгат IgG</b> ; содержит античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена: PBS, БСА, детергент, консервант Проклин 0.05%, светло-красный). Готов к использованию.

15 мл	<b>Ферментный конъюгат IgM</b> ; содержит античеловеческие IgM антитела, меченые пероксидазой хрена: PBS, БСА, детергент, консервант Проклин 0.05%, светло-красный). Готов к использованию.
15 мл	<b>Субстрат ТМВ</b> ; содержит 3,3', 5,5'-Тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
15 мл	<b>Стоп-раствор</b> ; содержит кислоту. Готов к использованию.
20 мл	<b>Промывочный раствор</b> , содержит Tris, детергент, консервант азид натрия 0.09%; 50X концентрат.
1	Инструкция по использованию
1	Сертификат анализа

### 5 НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Ридер для измерений при 450 нм; опция: референтный фильтр 620 нм
- Компьютерная программа для обработки данных
- Мультиканальный диспенсер или пипетка на 100 мкл
- Вортексный миксер
- Пипетки на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Таймер
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Градуированная емкость на 100 и 1000 мл
- Пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

Данный набор подходит для использования на автоматизированном оборудовании. Каждый анализ должен быть оценен на соответствующем оборудовании.

### 6 ЗАБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

- Собрать образцы цельной крови, избегая гемолиза.
- Дать крови свернуться и отделить сыворотку центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не гемолизированной. Избегать гемолиза или липемии; хотя это не влияет на проведение анализа.
- Образцы хранить при 2-8 °C до 5 дней. До шести месяцев образцы могут храниться замороженными при -20 °C.
- Избегать повторного замораживания-оттаивания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к потере активности антител.
- Не рекомендуется тестирование образцов, деактивированных теплом.

### 7 ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Набор хранить при 2-8 °C.
2. Не подвергать влиянию прямых солнечных лучей и тепла.
3. Лунки хранить запечатанными в сухой упаковке с влагопоглотителем.
4. Невскрытый набор стабильный на протяжении 18 месяцев от даты производства. Запечатанные реагенты стабильны до окончания срока годности набора. На этикетках указаны данные для каждой партии.
5. Разбавленные Буфер для Образцов и Промывочный Буфер стабильны до 30 дней при хранении при 2-8 °C. Рекомендуется использование в тот же день.

### 8 ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не использовать компоненты набора после окончания срока годности.
- Не смешивать компоненты наборов с разными номерами лотов.
- Перед использованием необходимо довести реагенты до комнатной температуры.
- Подготовить все образцы и реагенты до начала анализа. После начала анализа, проводить его непрерывно для получения надежных результатов.
- Соблюдать порядок проведения теста.
- Использовать только свежеразведенные образцы.
- Пипетировать все реагенты и образцы на дно лунок.
- Во избежание загрязнения, менять наконечники для образцов и контролей.
- Тщательно мыть микролунок и просушивать их.
- Проводить все шаги инкубации с одинаковым промежутком времени.
- Тестировать контрольные сыворотки или пулы для проверки работы реагентов и теста.
- Не использовать лунки повторно.

### 9 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Все реагенты данного набора предназначены только для диагностики in vitro.
2. Не смешивайте компоненты наборов с разными номерами лотов.
3. Набор содержит компоненты человеческого происхождения. Тестирование подтвердило отсутствие в них поверхностного

антигена гепатита В и антител к ВИЧ. Тем не менее, ни один из существующих методов не может гарантировать, что продукты человеческой крови не инфицированы и необходимо рассматривать их как таковые.

- Избегать контакта между буферным раствором и легко окисляющимися материалами. При контакте ТМБ с участком кожи необходимо тщательно промыть его водой с мылом.
- Избегать контакта со стоп-раствором, который является кислотой. Если он вступает в контакт с кожей, тщательно промойте водой и обратитесь за медицинской помощью.
- Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буферный промывочный раствор) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN<sub>3</sub>) является высокотоксичным и реактивным в чистом виде. При концентрации продукта (0,09%) не опасен. Несмотря на классификацию как неопасный, мы настоятельно рекомендуем следовать правилам лабораторной практики (см 8, 9, 10).
- Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Проклин 300, смывать с большим количеством воды, чтобы разбавить компоненты ниже активных уровней.
- Используйте одноразовые перчатки при работе с образцами или реагентами и тщательно мойте руки после этого.
- Не пипетировать ртом.
- Не есть, не пить, не курить или наносить макияж в тех областях, где находятся образцы или реагенты набора.
- Избегайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляющимися материалами; экстремальные температуры могут инициировать самовозгорание.

Соблюдайте принципы для осуществления контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контроля и/или объединенных сывороток.

## 10 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

### 10.1 Промывочный Буфер

Развести содержимое одного флакона концентрата промывочного буфера (50x) дистиллированной или деионизированной водой до объема 1000 мл перед использованием.

### 10.2 Буфер для образцов

Развести содержимое флакона концентрата буфера для образцов (5x) дистиллированной водой до общего объема 100 мл перед использованием.

## 11 ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Развести все образцы пациентов **1:100** с разбавителем для образцов. Для этого соединить 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в пробирке и тщательно перемешать.

**Замечание:** Калибраторы/Контроли готовы к использованию. Не разбавлять.

## 12 ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Подготовить необходимое количество стрипов для калибраторов/контролей и разведенных образцов пациентов.

- Пипетировать **100 мкл** калибраторов, контролей и разведенных образцов в дублях в соответствующие лунки.
- Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).
- Удалить содержимое лунок и промыть **3 раза 300 мкл** промывочного раствора.
- Пипетировать **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую лунку.
- Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре.
- Удалить содержимое лунок и промыть **3 раза 300 мкл** промывочного раствора.
- Пипетировать **100 мкл** раствора ТМБ в каждую лунку.
- Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре.
- Добавить **100 мкл стоп-раствора** в каждую лунку.
- Оставить на **5 минут** при КТ.
- Считать** оптическую плотность при **450 нм** и подсчитать результаты. Рекомендуется бихроматическое измерение при 600-690 нм. Цвет реакции стабилен 30 минут. Оптическую плотность необходимо считать за этот период времени.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	P1	A	P1								
B	B	P2	B	P2								
C	C	P3	C	P3								
D	D	P4	D	P4								
E	E	P5	E	P5								
F	F	P6	F	P6								
G	C+	P7	C+	P7								
H	C-	P8	C-	P8								
	IgG	IgG	IgM	IgM								

P1,... образец пациента, A-F Калибраторы, C+, C- контроли

## 13 ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Тест считается действительным, если оптическая плотность при 450 нм для Калибраторов/Контролей, а также результаты для контролей совпадают с указанными диапазонами.

## 14 ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для данного анализа рекомендуется использовать 4-параметровую функцию с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации. Подсчитайте значения оптической плотности для каждой калибровочной лунки. На линейно-логарифмической бумаге отметьте усредненные значения оптической плотности каждого калибратора против его концентрации. Постройте стандартную кривую. Концентрации образцов можно высчитать путем интерполяции по стандартной кривой.

## 15 ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

### 15.1 Калибровка

Система анализа калибруется относительно международно установленной референтной сыворотки от E.N. Harris, Louiseville и специфичного референтного материала IPR 97/656 (IgG) и HCAL (IgG)/EY2C9 (IgM).

### 15.2 Диапазон измерения

Расчетный диапазон для данного набора составляет  
IgG: 0-120 GPL-Ед/мл      IgM: 0-80 MPL-Ед/мл

### 15.3 Ожидаемые значения

При исследовании в нормальном диапазоне от здоровых доноров крови были установлены следующие диапазоны:

Cut-off IgG: 10 GPL-Ед/мл  
IgM: 7 MPL-Ед/мл

### 15.4 Интерпретация результатов

Отрицательный: IgG < 10 GPL-Ед/мл IgM < 7 MPL-Ед/мл  
Положительный: ≥ 10 GPL-Ед/мл      ≥ 7 MPL-Ед/мл

### 15.5 Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, серийно разводили в буфере для образцов, для демонстрации динамического диапазона анализа и верхней/нижней границы линейности. Активность для каждого разведения была рассчитана из калибровочной кривой.

См. таблицу в оригинале инструкции.

### 15.6 Предел обнаружения

Функциональная чувствительность составила:  
IgG: 1 GPL-Ед/мл IgM: 0.5 MPL-Ед/мл

### 15.7 Точность

IgG Внутри теста		
№ образца	Среднее значение [GPL Ед/мл]	Козф. вариации [%]
1	29.1	5.4
2	62.5	5.8
3	109.4	4.1

IgG Между тестами		
№ образца	Среднее значение [GPL Ед/мл]	Козф. вариации [%]
1	32.9	3.8
2	70.9	2.5
3	118.3	2.7

IgM Внутри теста		
№ образца	Среднее значение [MPL Ед/мл]	Козф. вариации [%]
1	8.4	3.7
2	40.1	5.3
3	58.6	5.3

IgM Между тестами		
№ образца	Среднее значение [MPL Ед/мл]	Козф. вариации [%]
1	10.3	3.4
2	47.0	3.3
3	79.1	2.5

### 15.8 Интерферирующие субстанции

Интерференция не наблюдалась при реакции с гемолитическими (до 1000 мг/дл), липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл) образцами. Антикоагулянты также не влияют на результаты.

### 15.9 Результаты исследований

Таблицы см. в оригинале инструкции.

## 16 ОГРАНИЧЕНИЯ

Данный набор является диагностическим анализом. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, но должен быть сделан врачом после всех клинических и лабораторных исследований.



**ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР**

ООО «ДИАМЕБ»  
ул. Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
е-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)