

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

15 мл	Ферментный конъюгат IgM ; содержит античеловеческие IgM антитела, меченые пероксидазой хрена: PBS, БСА, детергент, консервант Проклин 0.05%, светло-красный). Готов к использованию.
15 мл	Субстрат ТМВ ; содержит 3,3', 5,5'-Тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
15 мл	Стоп-раствор ; содержит кислоту. Готов к использованию.
20 мл	Промывочный раствор , 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 (NaN₃) 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
www.diameb.com