

ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ КЛАССА IgG К КАРДИОЛИПИНУ

ORG 215G, Anti-Cardiolipin IgG

Каталог. № : **ORG 215G**
Количество : **96**
Производитель: **Orgentec (Германия)**

Методика от **07-2012**



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

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный набор основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для количественного измерения аутоантител класса IgG к Кардиолипину в сыворотке или плазме человека. Метод предназначен только для *in vitro* диагностики.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ (См. оригинал инструкции на англ. языке).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ Alegria® включает в себя 8-миллюонные микрополоски со штрих-кодами, которые называются Alegria® Тест-полосками. Каждая полоска предназначена для анализа одного образца пациента. Набор состоит из полного комплекта реагентов. Сюда включены конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и специфический тестовый контроль. Кроме того, каждая полоска имеет две лунки, покрытые антигеном, которые служат в качестве реакционных лунок для контроля и образца пациента. Определение основано на непрямо-ферментно-связанной иммунной реакции со следующими стадиями: Антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух реакционных лунок, образуя комплекс антиген-антитело. После инкубации, на первом этапе промывки удаляются несвязанные и не специфически связанные молекулы. Последовательно добавленный ферментный конъюгат связывается с иммобилизованным комплексом антитело-антиген. После инкубации во время второй промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизации и развитию цвета во время инкубации. Интенсивность синего цвета соответствует концентрации комплекса антитело-антиген и может быть измерена фотометрически при 650 нм. Данный тест основан на запатентованной SMC®-технологии (Sensotronic Memorized Calibration): информация об анализе, анализ и его оценка, а также срок годности для конкретной партии срока годности содержатся на штрих-коде, указанном на каждой Alegria® тест-полоске®. Тест-полоски Alegria® можно использовать с диагностическим инструментом Alegria® - полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью SMC®-Технологии данные, закодированные на штрих-коде, передаются от тест-полоски Alegria® к прибору и анализу автоматически обрабатывается и оценивается. Прибор считывает дату срока годности и отвергает дальнейшую обработку, если вышел срок годности тест-полоски Alegria®.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

- Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
- Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту В и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами сыворотки следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и найден отрицательным.

- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5,5'-Тетраметилбензидином).
- Системная жидкость содержит кислоту, классификация - не является опасной. Избегать контакта с кожей.
- Контроль, буфер для образцов и промывочный буфер содержат азид натрия 0,09% в качестве консерванта. Эта концентрация классифицируется как неопасная.
- Ферментный конъюгат содержит ProClin 300 0.05% в качестве консерванта. Эта концентрация классифицируется как неопасная.

Во время работы с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдать существующие правила лабораторной безопасности и надлежащей лабораторной практики:

- Меры первой помощи: при попадании на кожу, немедленно тщательно промыть водой с мылом. Снять загрязненную одежду и обувь и выстирать ее перед использованием. Если системная жидкость соприкасается с кожей, тщательно промойте водой. После контакта с глазами тщательно промойте глаза с приоткрытыми веками проточной водой в течение не менее 10 минут. Обратитесь к врачу, если это необходимо.
- Меры личной безопасности, защитное снаряжение и чрезвычайные меры:

Соблюдать правила безопасности лабораторий. Избегать контакта с кожей и глазами. Не глотать. Не пипетировать ртом. Не есть, не пить, не курить, не наносить макияж в местах работы с реагентами. При пролипании вытереть инертным материалом и выбросить в соответствующую емкость для утилизации отходов.

- Средства индивидуальной защиты: Использовать защитные перчатки из нитрил каучука или натурального латекса.

Пользуйтесь защитными очками.

- Неблагоприятные условия: Так как раствор субстрата является светочувствительным, хранить Alegria® полоски в темноте.
- При утилизации лабораторных отходов национальное или региональное законодательство должно соблюдаться.

Соблюдайте рекомендации по обеспечению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и/или объединенных сывороток.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

| | |
|--------------------------|--|
| ORG 215G-24 | Достаточно для проведения 24 анализов |
| ORG 215G-12 | Достаточно для проведения 12 анализов |
| Тестовые полоски Alegria | Тест-полоски Alegria® являются модулями по 8 лунок каждая, состоящие из: |
| | Лунки 1+2: Пустые и без нанесения (лунки для разбавления образцов) |
| | Лунки 3+4: Покрыты антигеном (реакционные лунки) |
| | Лунка 5: Контроль ; желтого цвета; содержит специфические антитела, PBS, BSA, моющее средство, консервант азиды натрия 0,09%. |
| | Лунка 6: Ферментный конъюгат ; светло-красный; содержит анти-человеческие IgG антитела, меченные HRP; PBS, BSA, моющее средство, консервант Проклина 0,05%. |
| | Лунка 7: Буфер для разведения образцов : желтый; содержащий PBS, BSA, моющее средство, консервант азиды натрия 0,09%. |
| | Лунка 8: ТМБ субстрат : прозрачный; содержащий 3,3',5,5'-Тетраметилбензидин. |
| | Высокоочищенный кардиолипин нанесен в лунки, покрытые Вета-2-Гликопротеином I. |
| 1 x 20 мл | Код продукта на штрих-коде Cardiolipin IgG Промывочный буфер, содержащий Трис, моющее средство, консервант азиды натрия 0,09%; 50 x концентрат |
| 1 x 2.5 мл | Системная жидкость, содержит кислоту; 1000 x концентрат |
| 1 | Инструкция по применению: Alegria® Mini-CD |
| 1 | Свидетельство о проведенном анализе |

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тестовый набор при 2-8 °C в темноте.
- Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски запечатанными и с влагопоглотителем в пакете, который поставляется.
- Срок хранения нераспечатанного набора составляет 15 месяцев с даты производства. Закрытые реагенты стабильны до истечения срока годности. Смотреть этикетки для отдельной партии.
- Разведенный Промывочный буфер и системная жидкость стабильны в течение по крайней мере 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. После передачи в контейнер реагента, мы рекомендуем использовать его в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- ✓ Вихревой миксер
- ✓ Пипетки на 10 мкл
- ✓ Дистиллированная или неионизированная вода
- ✓ Мерный цилиндр на 1000 и 2500 мл

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

1. Соберите образцы цельной крови, используя приемлемую медицинскую технологию, избегая гемолиза.
2. Дайте возможность крови стуститься и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Необходимо избегать гемолитической или липемической сыворотки.
4. Образцы должны храниться при 2-8°C до 5 дней или при -20°C до шести месяцев.
5. Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к потере активности аутоантителами.
6. Не рекомендуется тестирование инактивированной жарой сыворотки.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

1. Не используйте компоненты набора после окончания срока пригодности.
2. Все материалы следует привести к комнатной температуре.
3. Для предотвращения загрязнения меняйте наконечники между образцами и разными контролями набора.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Промывочный буфер

Разбавьте Концентрат Промывочного Буфера (50X) с 5-кратным концентратом буфера образцов дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Внести разбавленный промывочный буфер в контейнер для реагента инструмента. Если только один анализ в день будет проводиться, мы рекомендуем вносить только 500 мл разбавленного промывочного буфера.

Системная жидкость

Развести Концентрат системной жидкости (1000X) с дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл перед использованием. Перенести разбавленную системную жидкость в контейнер для реагента инструмента.

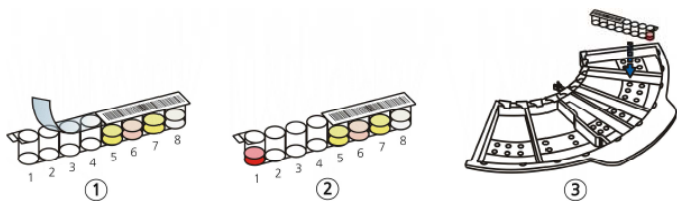
Тестовые полоски

Достать необходимое количество тест-полосок из упаковки и привести их к комнатной температуре (20-28 °C). Не снимать покрытие с пустых скважин, пока вы не готовы начать анализ.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются с диагностическим инструментом Alegria®. Подробную информацию о работе с прибором можно найти в Инструкции по применению.

- 1) Снимите покрытие с пустых лунок 1-4 на тест-полосках Alegria®. **Не снимайте покрытие с лунок 5-8 с нанесенным на них штрих-кодом.**
- 2) Пипетировать 10 мкл неразбавленной пробы пациента (сыворотка или плазма) в нижнюю часть лунки 1.
- 3) Поместить полоску в SysTray. Поставить загруженный SysTrays в правильное положение в приборе Alegria® и начать работу. Все дальнейшие шаги будут сделаны автоматически. Пробный пуск завершен, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Калибровка проводится с использованием международно признанной контрольной сыворотки от EN Харрис, Луисвилл, IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью SMC® Технологии все тестовые данные передаются в систему через отдельные штрих-коды на тест-полосках. Расчет и интерпретация результатов будут выполняться автоматически.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерения

Расчетный диапазон этого анализа составляет 0 - 120 GPL-Ед/мл.

Ожидаемые результаты

В нормальном исследовании с использованием образцов от здоровых доноров крови следующие диапазоны были получены с данным анализом: Пороговое значение 10 GPL – Ед/мл

Интерпретация результатов

Нормальный: < 10 GPL – Ед/мл

Повышенные: ≥ 10 GPL – Ед/мл

Линейность

Три образца пациента, содержащие высокие уровни специфических антител, серийно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа. Активность для каждого разведения была рассчитана с помощью SMC® Technology.

| Образец | Разведение | Полученное значение | Ожидаемое значение | Соотношение |
|---------|------------|---------------------|--------------------|-------------|
| | | GPL – Ед/мл | GPL – Ед/мл | П/О % |
| 1 | 1:100 | 83.2 | 83.2 | 100 |
| | 1:200 | 45.2 | 41.6 | 109 |
| | 1:400 | 22.3 | 20.8 | 107 |
| 2 | 1:800 | 11.5 | 10.4 | 111 |
| | 1:100 | 75.4 | 75.4 | 100 |
| | 1:200 | 39.1 | 37.7 | 104 |
| 3 | 1:400 | 19.5 | 18.9 | 103 |
| | 1:800 | 8.6 | 9.4 | 91 |
| | 1:100 | 110.3 | 110.3 | 100 |
| | 1:200 | 54.2 | 55.2 | 98 |
| | 1:400 | 27.1 | 27.6 | 98 |
| | 1:800 | 15.2 | 13.8 | 110 |

Чувствительность

Функциональная чувствительность была определена как: 1 GPL–Ед/мл.

Воспроизводимость

Точность Внутрисерийная: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов из результатов 24 определений в одном анализе. Результаты приведены в таблице ниже.

Точность Межсерийная: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов из результатов 6 определений в 5 различных анализах. Результаты приведены в таблице ниже.

| Intra-Assay | | |
|-------------|------------|-----|
| Sample | Mean | CV |
| . | [GPL-U/ml] | [%] |
| 1 | 71.0 | 2.4 |
| 2 | 33.4 | 5.5 |
| 3 | 18.2 | 4.8 |

| Inter-Assay | | |
|-------------|------------|-----|
| Sample | Mean | CV |
| . | [GPL-U/ml] | [%] |
| 1 | 64.8 | 8.8 |
| 2 | 32.8 | 5.9 |
| 3 | 18.5 | 8.1 |

Интерферирующие вещества

Никакого вмешательства не наблюдалось с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (триглицеридов до 3 г/дл) сыворотками или плазмами или билирубином (до 40 мг/дл), содержащим сыворотку или плазму. Также никакие интерферирующие эффекты не наблюдались с использованием антикоагулянтов (цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать использования сильно гемолизированных или липемических образцов.

Результаты исследований

| Study population | n | n pos | % |
|-------------------|-----|-------|------|
| Primary APS | 8 | 6 | 75.0 |
| Secondary APS | 55 | 57 | 87.7 |
| Normal human sera | 150 | 6 | 4.0 |

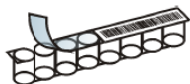
| | | Clinical Diagnosis | | |
|----------------------|-----|--------------------|-----|-----|
| | | Pos | Neg | |
| ORG 215G | Pcs | 63 | 6 | 223 |
| Anti-Cardiolipin IgG | Neg | 10 | 144 | |
| | | 73 | 150 | |
| Sensitivity: | 863 | % | | |
| Specificity: | 960 | % | | |
| Overall agreement | 928 | % | | |

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, но должен быть сделан врачом после всех клинических и лабораторных исследований, проведенных в отношении всей клинической картины пациента. Также каждое решение для терапии следует принимать в индивидуальном порядке.

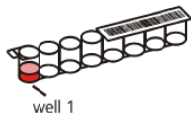
Указанные выше патологические и нормальные значения, характерные для антител в образцах пациента, следует использовать только в качестве рекомендаций. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ИСО 15189 или других применимых лабораторных принципов.

1 Удалить пленку с пустых лунок тестовой полоски.

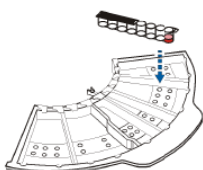


2 Пипетировать 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

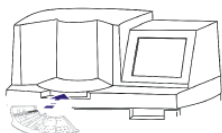
Исключение: в случае проведения теста Anti-GBM (ORG 250) пипетировать 20 мкл неразбавленного образца!



3 Поместить тестовую полоску в SysTray.



4 Загрузить инструмент, соблюдая правильность позиций SysTray (SysTray A в позиции А, SysTray В в позиции В, SysTray С в позиции С).



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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