НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО КОМПОНЕНТА SS-A

3107, Aeskulisa SS-A

Кат. № : ***3107*** *Методика від* ***10-10-2013***
Кількість : ***96*** *Версія* ***003***
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

AESKULISA SS-A являє собою твердофазний імуноферментний аналіз для кількісного та якісного визначення антитіл проти Ro/SS-A в сироватці крові людини. В аналізі використовується людський антиген Ro/SS-A, що складається з високоочищеного нативного (60 кДа) і рекомбінантного людського (52 кДа) білка Ro/SS-A. Анти-SS-A антитіла видоспецифічні (спрямовані тільки проти людського білка) і переважно реагують з нативною молекулою (60 кДа), при тому, що більшість антитіл до білка (52 кДа) надають перевагу денатурованій молекулі.
Аналіз є інструментом в диференціальній діагностиці синдрому Sjögren`s (SS) і системного червоного вовчака (SLE).

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

Принцип тесту
Зразки сироватки, розбавлені 1:101, інкубують в мікропланшетах з внесенням специфічного антигена. 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 відбувається реакція з комплексом антиген-антитіло в зразках в мікропланшетах. Незв'язаний кон'югат вимивається на наступній стадії. Додавання ТМВ субстрату генерує ферментативну колориметричну (синій колір) реакцію, яка зупиняється розведеною кислотою (колір змінюється на жовтий). Швидкість утворення кольору від хромогену є функцією кількості кон'югату, пов'язаного з комплексом антиген-антитіло, і вона пропорційна початковій концентрації відповідних антитіл у зразку пацієнта.

3 Комплект поставки

МАЮТЬ БУТИ ВІДНОВЛЕНІ				
Компонент	Кіл-ть	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Буфер для зразків (5x)	1 x 20 мл	Білий	Жовтий	5 x концентрований Tpic, NaCl, BSA, азид натрію < 0.1% (консервант)
Промивний буфер (50x)	1 x 20 мл	Білий	Зелений	50 x концентрований Tpic, NaCl, Твін 20, азид натрію < 0.1% (консервант)
ГОТОВІ ДО ВИКОРИСТАННЯ				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Негативний Контроль	1 x 1.5 мл	Зелений	Безколірний	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (БСА), азид натрію < 0.1% (консервант)
Позитивний Контроль	1 x 1.5 мл	Червоний	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (БСА), азид натрію < 0.1% (консервант)
Калібратор Cut-off	1 x 1.5 мл	Синій	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (БСА), азид натрію < 0.1% (консервант)
Калібратори	6 x 1.5 мл	Білий	Жовтий*	Концентрація кожного калібратора: 0, 3, 10, 30, 100, 300 Од/мл. Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (БСА), азид натрію < 0.1% (консервант)
Кон'югат, IgG	1 x 15 мл	Синій	Синій	Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрону, бичачий сироватковий альбумін (БСА)
Субстрат ТМБ	1 x 15 мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований ТМБ/H_2O_2
Стоп Розчин	1 x 15 мл	Білий	Безколірний	1 М соляної кислоти
Мікропланшет	12 x 8-лункових смужок	--	--	смужки, які відокремлюються Покриття див. пункт 1

* Колір збільшується з концентрацією

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ
Планшетний рідер з фільтром 450 нм і опційним референтним фільтром 620 нм (600-690 нм). Скляний посуд (циліндр 100-1000 мл), пробірки для розведення. Вортекс, піпетки прецизійні (10, 100, 200, 500, 1000 мкл) або регульована мультипіпетка (100-1000 мл). Мікропланшетний Пристрій для промивки (300 мкл повторювання або багатоканальна піпетка або автоматизована система), адсорбуючий 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 Мікропланшет при температурі 2-8 °C/35-46 °F, в оригінальній упаковці. Готові, відновлені розчини стабільні протягом 1 місяця при температурі 2-8 °C/35-46 °F, як мінімум. Реагенти і Мікропланшет повинні використовуватися тільки в межах терміну придатності, зазначеного на кожному компоненті. Уникайте інтенсивного впливу світла на ТМВ розчин. Зберігайте Мікропланшети в призначеній для цього фользі, в тому числі з осушувачем, і щільно закривайте.

5 Безпека використання

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.

УВАГА! Калібратори, Контролі та Буфери містять азид натрію (NaN_3) як консервант. NaN_3 може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN_3 може реагувати зі свинцем і міддю і формувати вибухонебезпечні азиди металів. При знищенні, змити з великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азидів. Будь ласка, зверніться до процедур дезактивації, як це викладено CDC або до інших місцевих/національних керівних принципів.

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

Весь вихідний людський матеріал, що використовується для деяких реагентів цього набору (контролі, стандарти, наприклад) був протестований схваленими методами, і був негативним до HbsAg, гепатиту С та ВІЛ 1. Проте, жоден тест не може гарантувати відсутність вірусних агентів у таких матеріалах повністю. Таким чином, поводитись з контролями, стандартами і зразками пацієнтів як з потенційним джерелом інфекційних захворювань і відповідно до національних вимог.

Комплект містить матеріал тваринного походження, як зазначено в таблиці змісту, поводитись відповідно до національних вимог.

5.2 Загальні зауваження щодо використання

У разі, якщо інформація про продукт, в тому числі маркування, є спотвореною або неправильною, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тест-набору.
Не змішуйте і не замінюйте реагенти або Мікропланшети з різних лотів. Це може привести до змін в результатах.
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.

Інкубація: Ми рекомендуємо проводити тест при 30 °C/86 °F для автоматизованих систем.
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.
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. 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.

7 Процедура аналізу

7.1 Підготовчі заходи перед початком роботи
Розвести концентровані реагенти:
Розвести концентрований буфер для зразків 1:5 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 80 мл).
Розвести концентрований Промивний буфер 1:50 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 980 мл).
Щоб уникнути помилок ми пропонуємо позначити ковпачки різних калібраторів.

Зразки:
Розвести зразки сироватки 1:101 буфером для зразка (1x)
Наприклад, 1000 мкл буфера для зразків (1x) + 10 мкл сироватки. Добре перемішати!

Промивання:
Підготувати 20 мл розведеного промивного буфера (1x) на 8 лунок або 200 мл на 96 лунок, наприклад, 4 мл концентрату плюс 196 мл дистильованої води.

Автоматизоване промивання:
Врахувати надлишкові обсяги, необхідні для налаштування приладу, і мертві обсяги для автоматизованого піпетування.

Ручне промивання:
Видалити рідини з лунок перекиданням планшета. Постукати рамкою з мікролунками енергійно на чистий адсорбуючий папір. Внести 300 мкл розведеного промивного буфера в кожну лунку, почекати 20 секунд. Повторити всю процедуру ще два рази.

Мікропланшети:
Розрахуйте кількість лунок, необхідних для аналізу. Видалити зайві лунки з рамки, помістити в пакет і зберігати разом з осушувачем, щільно закритими (2-8 °C/35-46 °F).

7.2 Схема Піпетування
Ми пропонуємо піпетувати калібратори, контролі і зразки таким чином:

Для КІЛЬКІСНОЇ інтерпретації

	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	...	
H	Cal D	NC	...	

Для ЯКІСНОЇ інтерпретації

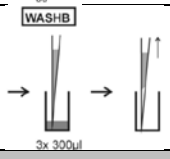
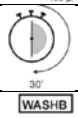
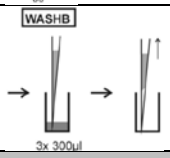
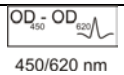
	1	2	3	4...
A	NC	P2		
B	NC	P2		
C	CC	P3		
D	CC	P3		
E	PC	...		
F	PC	...		
G	P1	...		
H	P1	...		

CalA: калібратор A
CalB: калібратор B
CalC: калібратор C
CalD: калібратор D
CalE: калібратор E
CalF: калібратор F

PC: позитивний контроль
NC: негативний контроль
CC: cut-off калібратор

P1: пацієнт 1
P2: пацієнт 2
P3: пацієнт 3

7.3 Проведення тестування

Крок	*Опис*
1.	Переконайтеся, що підготовка відповідно до пункту 7.1 вище була проведена перед піпетуванням.
2.	Використовуйте наступні кроки для отримання необхідних кількісних/якісних результатів:
	КОНТРОЛІ І ЗРАЗКИ
3.	Внести в зазначені лунки, як описано в розділі 7.2 вище, 100 мкл кожного: a. Калібраторів (CAL.A до CAL.F) для *КІЛЬКІСНОЇ* або b. Cut-off калібратора (CC) для *ЯКІСНОЇ* інтерпретації і 100 мкл кожного з наступних: • Негативного контролю (NC) і Позитивного контролю (PC), і • Розведеної сироватки пацієнта (P1, P2 ...)
4.	Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
5.	 Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
	КОН'ЮГАТ
6.	Внести 100 мкл кон'югату в кожну лунку.
7.	 Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
8.	 Промити 3 рази з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
	СУБСТРАТ
9.	Внести 100 мкл ТМБ субстрату в кожну лунку.
10.	Інкубувати протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищений від інтенсивного світла.
	СТОП РОЗЧИН
11.	Внести 100 мкл стоп-розчину в кожну лунку, використовуючи той же порядок, що і при піпетуванні субстрату.
12.	Витримати 5 хвилин мінімум.
13.	Ретельно струшувати пластину протягом 5 сек.
14.	 Виміряти оптичну щільність при 450 нм (рекомендується 450/620 нм) протягом 30 хвилин.

8 Кількісна та Якісна Інтерпретація
Для **кількісної інтерпретації** побудувати стандартну криву, відклавши **оптичну щільність (OD) кожного калібратора (вісь У)** по відношенню до відповідних значень концентрації в **Од/мл (вісь Х).** Для досягнення найкращих результатів ми рекомендуємо використання log/lin координат

та 4-Параметрове налаштування. 3 OD кожного зразка зчитати відповідні концентрації антитіл, виражені в **Од/мл**.

Нормальний діапазон	Сумнівний діапазон	Позитивні результати
< 12 Од/мл	**12-18 Од/мл**	**> 18 Од/мл**

Приклад стандартної кривої

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів!

Калібратори IgG	*OD 450/620 нм*	*CV % (Варіація)*
0 Од/мл	0.021	1.9
3 Од/мл	0.153	1.8
10 Од/мл	0.326	1.7
30 Од/мл	0.670	2.2
100 Од/мл	1.373	0.3
300 Од/мл	2.239	0.5

Приклад розрахунку

Пацієнт	Дублікат (OD)	Середнє (OD)	Результат (Од/мл)
P 01	0.979/0.969	0.974	54.6
P 02	0.575/0.583	0.579	23.4

Зразки вище значення найвищого діапазону калібратора слід представляти у вигляді > Max. Вони повинні бути розведені в міру необхідності і знову аналізовані. Зразки нижче значень діапазону калібратора повинні бути представлені у вигляді < Min.
Дані, характерні для конкретного лоту, знаходяться в листі контролю якості. Медичні лабораторії можуть проводити свій Контроль Якості використовуючи власні контролі і/або внутрішній пул сироваток, як це передбачено нормами ЄС.

Кожна лабораторія повинна встановити свої межі нормальних значень, ґрунтуючись на власних методах, контролях, обладнанні і популяції пацієнтів у відповідності зі своїми встановленими процедурами.
У випадку, коли значення контролів не відповідають критеріям, тест є недійсним і повинен бути повторений.

Наступні технічні дані повинні бути перевірені: термін придатності (приготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, прилади, фотометр, умови інкубації і методи промивки.
Якщо протестовані зразки показують значення, які відхиляються від встановлених, або критерії перевірки не виконуються без вагомих причин, будь ласка, зверніться до виробника чи постачальника тест-набору.

Для **якісної інтерпретації** зчитати оптичну щільність Cut-off калібратора і зразків пацієнтів. Порівняти OD пацієнта з OD Cut-off калібратора. Для якісної інтерпретації ми рекомендуємо розглядати сироватки в діапазоні 20% навколо порогового значення, як двозначні. Всі зразки з більш високим OD вважаються позитивними, зразки з більш низькими OD вважаються негативними.

Негативний: $OD_{пацієнта} < 0.8 \times OD_{Cut\text{-}off}$
Сумнівний: $0.8 \times OD_{Cut\text{-}off} \leq OD_{пацієнта} \leq 1.2 \times OD_{Cut\text{-}off}$
Позитивний: $OD_{пацієнта} > 1.2 \times OD_{Cut\text{-}off}$

9 Технічні дані

Матеріал зразка: сироватка
Об'єм зразка: 10 мкл зразка, розведеного 1:101 в 1x буфері для зразків
Загальний час інкубації: 90 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F
Діапазон калібрування: 0-300 Од/мл
Аналітична чутливість: 1.0 Од/мл
Зберігання: при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони
Кількість визначень**:** 96 тестів

10 Робочі характеристики

10.1 Аналітична Чутливість
Тестування буфера для зразків 30 разів на *AESKULISA SS-A* дало аналітичну чутливість 1.0 Од/мл.

10.2 Специфічність і чутливість
Мікропланшети покриті нативним людським 60 кДа SS-A і рекомбінантним людським 52 кДа SS-A. Перехресної реактивності з іншими антигенами не виявлено. Антитіла проти SS-A присутні в 80% пацієнтів з синдромом Шегрена і 40% ANA (антинуклеарні антитіла) позитивних системних пацієнтів червоного вовчака.

10.3 Лінійність
Обрані сироватки тестувались з цим набором і було встановлено лінійність розведення. Тим не менше, через неоднорідність характеру людських аутоантитіл можуть існувати зразки, що не підлягають цьому правилу.

№ Зразка	Фактор розведення	Виміряна концентрація Од/мл	Очікувана концентрація Од/мл	Відновлення (%)
1	1/100	18.7	19.3	96.6
	1/200	9.6	9.7	99.0
	1/400	4.9	4.8	102.0
	1/800	2.4	2.4	100.0
2	1/100	61.4	58.7	105.0
	1/200	27.1	29.4	92.2
	1/400	13.7	14.7	93.2
	1/800	6.9	7.3	94.5

10.4 Точність
Для визначення точності аналізу, мінливість (всередині і між серіями) оцінювали шляхом аналізу його відтворюваності на трьох відібраних зразках сироватки, щоб представити діапазон в порівнянні зі стандартною кривою.

Intra-assay		
Sample No.	Mean (U/ml)	CV (%)
1	78.2	8.1
2	44.3	2.8
3	22.9	2.0

Inter-assay		
Sample No.	Mean (U/ml)	CV (%)
1	102.4	3.8
2	62.5	5.5
3	26.3	1.9

10.5 Калібрування
Через відсутність міжнародного еталонного калібрування цей аналіз відкалібрований в умовних одиницях (Од/мл).

Пояснення символів, що використовуються на маркуванні:

IVD	Медичний виріб для діагностики *in vitro*
REF	Каталоговий номер
LOT	Код партії
CE	CE маркування
	Національний знак відповідності
96	96 тестів
i	Ознайомлення з інструкціями для застосування
	Використати до
+2°C +8°C	Температурні обмеження (2-8 °C)
	Виробник
CO-CAL	Калібратор Cut-off
CON +	Позитивний контроль
CON -	Негативний контроль
CAL	Калібратор
RC	Відновлювач
CONJ	Кон'югат
MP	Мікропланшет
PINP	Планшет
WASHB 50x	Промивний буфер
SUB	Субстрат
STOP	Стоп розчин
SB 5x	Буфер для зразків

AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co.KG
Mikroforum Ring 2, 55234 Wendelsheim, Germany
Phone: +49-6734-9622-0
FAX: +49-6734-9622-2222
WWW.AESKU.COM

УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

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»