

НАБІР ІФА

ДЛЯ РОЗДІЛЬНОГО ЯКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ IgG АНТИТІЛ ДО ENA-6

3120, Aeskulisa ENA-6 Stripes

Каталог. №: 3120

Кількість : 96

Виробник : AESKU. Diagnostics,
(Німеччина)

Методика від 30-09-2010

Версія 002



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 ENA-6 Stripes являє собою твердофазний імуноферментний аналіз для роздільного якісного визначення IgG антитіл до шести клітинних і ядерних антигенів у сироватці крові людини. Лунки окремо покриті рекомбінантними SS-B, SS-A (52 кДа), Scl 70, Jo-1 і високо очищеними нативними людськими SnRNP/Sm, Sm і SS-A (60 кДа). Аналіз є інструментом в диференціальній діагностиці системних ревматичних захворювань.

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

Принцип тесту

Зразки сироватки, розбавлені 1:101, інкубують в Мікропланшетах з внесенням конкретного 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 хрому (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:

| | |
|----------------------|---|
| 5x Буфер для зразків | 1 флакон, 20 мл - 5x концентрований (білий ковпачок: жовтий розчин) Містить: Тріс, NaCl, BSA, азид натрію <0,1% (консервант) |
| 50x Промивний буфер | 1 флакон, 20 мл - 50x концентрований (білий ковпачок: зелений розчин) Містить: Тріс, NaCl, Твін 20, азид натрію <0,1% (консервант) |

Готові до використання:

| | |
|---------------------|--|
| Негативний Контроль | 1 флакон, 1,8 мл (зелений ковпачок: безколірний розчин) Містить: людську сироватку (розведена), азид натрію <0,1% (консервант) |
| Позитивний Контроль | 1 флакона, 1,8 мл (червоний ковпачок: жовтий розчин) Містить: людську сироватку (розведена), азид натрію <0,1% (консервант) |
| Калібратори Cut-off | 6 флаконів антиген-специфічних, 1,5 мл (синій ковпачок: жовтий розчин) Містить: людську сироватку (розведена), азид натрію <0,1% (консервант) |
| Кон'югат | 1 флакон, 15 мл IgG (синій ковпачок: синій розчин) Містить: Анти-імуноглобуліни людини, кон'юговані з пероксидазою хрому |
| Субстрат ТМВ | 1 флакон, 15 мл (чорний ковпачок) Містить: стабілізований ТМВ/H ₂ O ₂ |
| Стоп Розчин | 1 флакон, 15 мл (білий ковпачок: безбарвний розчин) Містить: 1 М соляної кислоти |
| Мікропланшет | 12 x 8-лункових смужок, які відокремлюються Покриття див. пункт 1 |

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 +4 °C/39 °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. Заходи безпеки 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, притримуйтеся 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 (NaN₃) як консервант. NaN₃ може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN₃ 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 при роботі 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.

5.2 Загальні зауваження щодо використання

Не змішуйте і не замінійте 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.

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 частками 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 відразу, зберігати щільно закритими при температурі 2-8 °C/35-46 °F до трьох днів і замороженими при -20 °C/-4 °F для більш тривалих періодів.

7. Процедура аналізу

7.1 Підготовчі заходи перед піпетуванням

Розвести концентровані реагенти:

Розвести концентрований буфер для взірців 1:5 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 80 мл).

Розвести концентрований Промивний буфер 1:50 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 980 мл).

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, почекавши 20 секунд. Повторити всю процедуру ще два рази.

Мікропланшети:

Розрахуйте кількість лунок, необхідних для випробування. Видалити зайві лунки з рами, помістити в пакет і зберігати разом з осушувачем, (2-8 °C/35-46 °F).

7.2 Проведення тестування

Схема піпетування: див. Додаток А, процедура випробування: див. Додаток В

Ми рекомендуємо піпетування зразків і калібраторів у двох примірниках.

- Внесіть 100 мкл розведеної сироватки кожного пацієнта в призначені лунки.
- Внесіть 100 мкл Cut-off калібратора і Негативного і Позитивного контролів в призначені лунки.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
- Вимийте 3x з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
- Внесіть 100 мкл кон'югату в кожну лунку.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F.
- Вимийте 3x з 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
- Внесіть 100 мкл ТМБ субстрат в кожну лунку.
- Витримайте протягом 30 хвилин при 20-32 °C/68-89.6 °F, захищеному від інтенсивного світла.
- Внесіть 100 мкл стоп розчину в кожну лунку, використовуючи той же порядок, як при піпетуванні субстрату.
- Інкубуйте 5 хвилин мінімум.
- Агітувати пластину ретельно протягом 5 сек.
- Зчитати абсорбцію при 450 нм (опційно 450/620 нм) протягом 30 хвилин.

8. Якісна Інтерпретація

Зчитати оптичну щільність Cut-off калібратора і зразків пацієнтів. Помножте ОЩ Cut-off калібратора на коефіцієнт, специфічний для параметра, який зазначений у сертифікаті контролю якості. Порівняйте ОЩ пацієнтів з розрахунковим значенням ОЩ Cut-off. Для якісної інтерпретації ми рекомендуємо розглянути сироватки в межах 20% навколо значення Cut-off, як неоднозначні. Всі зразки з більш високим значенням ОЩ вважаються позитивними, зразки з більш низьким значенням ОЩ вважаються негативними.

| ENA-6 Stripes | OD 450/620 нм |
|---------------------|---------------|
| Негативний контроль | 0.033 |
| Калібратор Cut-off | 0.550 |

Приклад інтерпретації

Ми рекомендуємо піпетування калібраторів паралельно для кожного запуску.

| | | |
|----------------|-----------------------------|-----------------------|
| QC-Сертифікат: | Jo-1 Коефіцієнт: | 0.95 |
| Отримане: | OD Cut-off Калібратор (Jo- | 0.550 |
| Розраховане: | 1): | 0.550 x 0.95 = 0.5225 |
| | OD Cut-off Параметр (Jo-1): | |

| | | |
|-------------|--|-------|
| Негативний: | OD пацієнта < 0.8 x OD Cut-off Параметр = 0.8 x 0.5225 = | 0.418 |
| Позитивний: | OD пацієнта > 1.2 x OD Cut-off Параметр = 1.2 x 0.5225 = | 0.627 |
| Сумнівний: | 0.418 ≤ OD пацієнта ≤ 0.627 | |

| № ID | Зразок | Розрахунок OD | Інтерпретація |
|------|---------|-------------------|---------------|
| | OD Jo-1 | | |
| 1 | 0.99 | > 0.627 | Позитивний |
| 2 | 0.49 | ≥ 0.418 і ≤ 0.627 | Сумнівний |
| 3 | 0.27 | < 0.418 | Негативний |

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів!

Дані, характерні для конкретного лоту, знаходяться в листі контролю якості. Медичні лабораторії можуть проводити свій Контроль Якості використовуючи власні контроли і/або внутрішній пул сироваток, як це передбачено нормами ЄС.

Для напівкількісного визначення результатів кожне значення ОЩ пацієнта може бути виражене за допомогою індексу. Індекс обчислюється шляхом ділення значення ОЩ пацієнтів на ОЩ Cut-off:

Значення індексу = OD (зразок пацієнта) / OD (Cut-off параметр)

| | |
|-------------|-------------------------|
| Негативний: | OD пацієнта < 0.8 |
| Сумнівний: | 0.8 ≤ OD пацієнта ≤ 1.2 |
| Позитивний: | OD пацієнта > 1.2 |

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 |
| Зберігання: | при температурі 2-8 °C/35-46 °F використовуйте тільки оригінальні флакони |
| Кількість визначень: | 96 тестів |

10. Дані продуктивності

10.1 Специфічність і чутливість

Мікропланшет покритий сумішшю високо очищених та/або рекомбінантних антигенів (SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Sm, Scl-70, Jo-1). Перехресної реактивності з іншими аутоантигенами не було виявлено. ANA не є специфічними до SLE, але виявляються в різних ревматичних захворюваннях.

10.2 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.

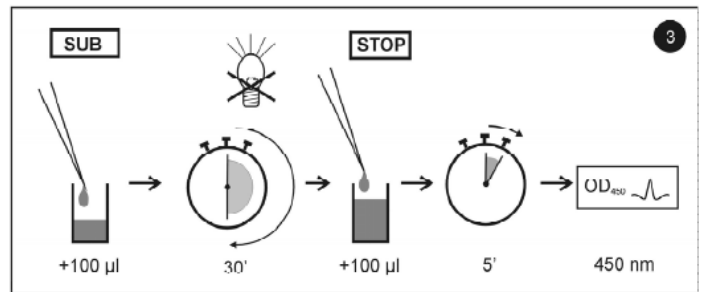
| № Зразка | Фактор розведення | Виміряна концентрація (співвідношення OD) | Очікувана концентрація (співвідношення OD) | Відновлення (%) |
|----------|-------------------|---|--|-----------------|
| 1 | 1/100 | 6.1 | 6.1 | 100.0 |
| | 1/200 | 3.1 | 3.05 | 101.6 |
| | 1/400 | 1.49 | 1.53 | 97.3 |
| | 1/800 | 0.71 | 0.76 | 93.4 |
| 2 | 1/100 | 3.2 | 3.4 | 94.1 |
| | 1/200 | 1.6 | 1.7 | 94.1 |
| | 1/400 | 0.81 | 0.85 | 95.3 |
| | 1/800 | 0.41 | 0.43 | 95.4 |

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 | | |
|---------------|---------------|--------|
| ENA-6 Stripes | Mean OD Ratio | CV (%) |
| SSA | 3.5 | 1.2 |
| SSB | 2.8 | 1.0 |
| Sm | 1.8 | 1.0 |
| RNP/Sm | 3.1 | 0.8 |
| Scl-70 | 1.2 | 1.5 |
| Jo-1 | 1.0 | 1.2 |

| Inter-Assay | | |
|---------------|---------------|--------|
| ENA-6 Stripes | Mean OD Ratio | CV (%) |
| SSA | 3.9 | 0.9 |
| SSB | 1.5 | 0.7 |
| Sm | 4.1 | 1.1 |
| RNP/Sm | 3.2 | 0.8 |
| Scl-70 | 1.4 | 1.9 |
| Jo-1 | 2.4 | 0.8 |



10.4 Калібрування

AESKULISA ENA-6 Stripes відкалібрований проти контрольних сироваток від CDC (Центр по контролю і профілактиці захворювань) Атланта.

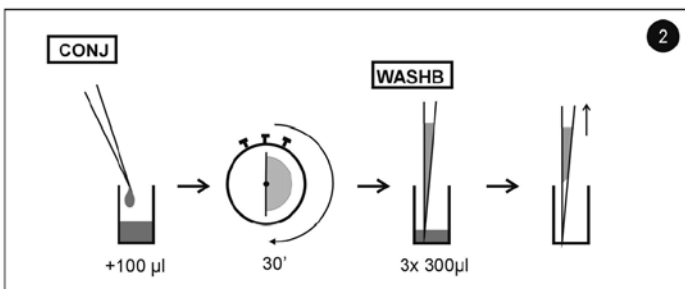
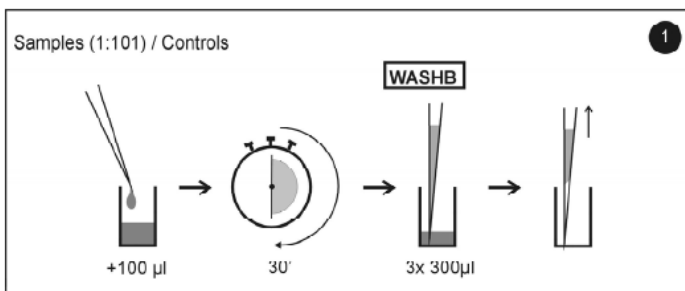
ДОДАТОК А: Схема піпетування

Ми пропонуємо піпетування калібраторів, контролів і зразків наступним чином:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------------|------|-------------|------|-----------|----|---------------|--------|--------------|-------|-------------|------|
| | SS-A | SS-A | SS-B | SS-B | Sm | Sm | RNP/Sm | RNP/Sm | Scl70 | Scl70 | Jo-1 | Jo-1 |
| A | CO CAL SS-A | P | CO CAL SS-B | P | CO CAL Sm | P | CO CAL RNP/Sm | P | CO CAL Scl70 | P | CO CAL Jo-1 | P |
| B | CO CAL SS-A | P | CO CAL SS-B | P | CO CAL Sm | P | CO CAL RNP/Sm | P | CO CAL Scl70 | P | CO CAL Jo-1 | P |
| C | PC | P | PC | P | PC | P | PC | P | PC | P | PC | P |
| D | NC | P | NC | P | NC | P | NC | P | NC | P | NC | P |
| E | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P |
| F | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P |
| G | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P |
| H | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P |

CoCal: Cut-off калібратор
 PC: позитивний контроль
 NC: негативний контроль
 P: пацієнт

Додаток В: Процедура випробування



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

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