

## НАБІР ІФА

# ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ IgG ТА IgM ДО МІТОХОНДРІЙ AMA-M2

### 3707, Aeskulisa AMA-M2-Check

Кат. № : 3707

Кількість : 96

Виробник : AESKU. Diagnostics,  
(Німеччина)

Методика від 09-11-2015

Версія 003



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 AMA-M2-Check** являє собою твердофазний імуоферментний аналіз з використанням нативного мітохондріального антигена M2 для кількісного та якісного визначення IgG та IgM антитіл проти M2 в сироватці крові людини.

Аналіз є інструментом в діагностиці первинного біліарного цирозу (PBC).

#### 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				
Компонент	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Буфер для зразків (5x)	1 x 20 мл	Білий	Жовтий	5 x концентрований Тріс, NaCl, BSA, азид натрію < 0.1% (консервант)
Промивний буфер (50x)	1 x 20 мл	Білий	Зелений	50 x концентрований Тріс, 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 (BCA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Позитивний Контроль	1 x 1.5 мл	Червоний	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BCA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Калібратор Cut-off	1 x 1.5 мл	Синій	Жовтий	Людська сироватка (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BCA), 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 (BCA), азид натрію < 0.1% (консервант)
Кон'югат, IgG/M	1 x 15мл	Білий	Червоний	Містить: Анти-імуноглобуліни

				людини, кон'юговані з пероксидазою хрому, бичачий сироватковий альбумін (BCA)
Субстрат ТМВ	1 x 15мл	Чорний	Безколірний	Стабілізований ТМВ/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Стоп Розчин	1 x 15мл	Білий	Безколірний	1 М соляної кислоти
Мікропланшет	12 x 8- лункових смужок	--	--	Смужки, які відокремлюються Покриття див. пункт 1
* Колір збільшується з концентрацією				
<b>НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ</b>				
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. Зберігати Мікропланшет 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 (NaN<sub>3</sub>) як консервант. NaN<sub>3</sub> може бути токсичним, якщо його проковтнути або при попаданні на шкіру і очі. NaN<sub>3</sub> 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 ВЛ 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 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 надавайте 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 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 протягом 8 годин, зберігати щільно закритими при температурі 2-8 °C/35-46 °F до 48 годин 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, почекати 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 Схема Піпетування

Ми пропонуємо піпетувати калібратори, контролі і зразки таким чином:

Для **КІЛЬКІСНОЇ** інтерпретації

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

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


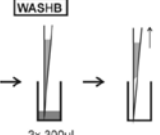


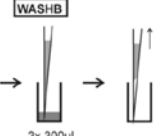




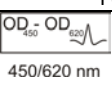
Для **ЯКІСНОЇ** інтерпретації

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

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:
<b>КОНТРОЛІ І ЗРАЗКИ</b>	
3.	Внести в зазначені лунки, як описано в розділі 7.2 вище, 100 мкл кожного: a. Калібраторів (CAL.A до CAL.F) для <b>КІЛЬКІСНОЇ</b> або b. Cut-off калібратора (CC) для <b>ЯКІСНОЇ</b> інтерпретації і 100 мкл кожного з наступних: <ul style="list-style-type: none"> <li>Негативного контролю (NC) і Позитивного контролю (PC), і</li> <li>Розведеної сироватки пацієнта (P1, P2 ...)</li> </ul>

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).
<b>КОН'ЮГАТ</b>		
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).
<b>СУБСТРАТ</b>		
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.
<b>СТОП РОЗЧИН</b>		
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 і Якісна Інтерпретація

Для **кількісної інтерпретації** побудувати стандартну криву, відклавши **оптичну щільність (OD) кожного калібратора (вісь Y)** по відношенню до відповідних значень концентрації в **Од/мл (вісь X)**. Для досягнення найкращих результатів ми рекомендуємо використання log/lin координат та 4-Параметрове налаштування. З OD кожного зразка зчитати відповідні концентрації антитіл, виражені в **Од/мл**.

Нормальний діапазон	Сумнівний діапазон	Позитивні результати
< 16 Од/мл	16-24 Од/мл	> 24 Од/мл

### Приклад стандартної кривої

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнтів!

Калібратори IgG/M	OD 450/620 нм	CV % (Варіація)
0 Од/мл	0.032	2.8
3 Од/мл	0.152	2.6
10 Од/мл	0.281	1.2
30 Од/мл	0.646	2.4
100 Од/мл	1.214	1.7

300 Од/мл	2.104	1.6
-----------	-------	-----

#### Приклад розрахунку

Пацієнт	Дублікат (OD)	Середнє (OD)	Результат (Од/мл)
P 01	0.794/0.792	0.793	45.4
P 02	1.453/1.477	1.465	135.8

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 контроли 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 x OD Cut-off  
**Сумнівний:** 0.8 x OD Cut-off ≤ OD пацієнта ≤ 1.2 x OD Cut-off  
**Позитивний:** OD пацієнта > 1.2 x OD Cut-off

#### 9. Технічні дані

**Матеріал зразка:** сироватка  
**Обсяг 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. Дані продуктивності

##### 10.1 Аналітична Чутливість

Тестування буфера для зразків 30 разів на *AESKULISA AMA-M2-Check* дало аналітичну чутливість 1.0 Од/мл.

##### 10.2 Специфічність і чутливість

Мікропланшет покритий високо очищеним мітохондріальним антигеном M2. Перехресна реактивність до інших аутоантигенів не спостерігалась. Антитіла анти-M2 є специфічними для діагностування PBC і були виявлені у 96% пацієнтів.

##### 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	154.0	157.0	98.1
	1/200	77.0	78.5	98.1
	1/400	40.8	39.3	103.8
	1/800	20.4	19.6	104.1
2	1/100	65.0	63.0	103.2
	1/200	32.0	31.5	101.6
	1/400	16.4	15.8	103.8
	1/800	8.2	7.9	103.8

#### 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	153.3	3.4
2	63.7	2.8
3	24.8	1.4

Inter-Assay		
Sample No.	Mean (U/ml)	CV (%)
1	144.8	4.2
2	59.7	2.1
3	21.4	1.5

#### 10.5 Калібрування

Через брак міжнародного еталонного калібрування цей аналіз відкалібрований в довільних одиницях (Од/мл).

#### Пояснення символів, що використовуються на маркуванні:

	Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i>
	Каталоговий номер
	Код партії
	СЕ маркування
	Національний знак відповідності
	96 тестів
	Ознайомлення з інструкціями для застосування
	Використати до
	Температурні обмеження (2-8 °C)
	Виробник
	Калібратор Cut-off
	Позитивний контроль
	Негативний контроль
	Калібратор
	Відновлювач
	Кон'югат
	Мікропланшет
	Планшет
	Промивний буфер
	Субстрат
	Стоп розчин
	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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)

