

Ревматоїдний фактор IgA/IgG/IgM ІФА

Імуноферментний аналіз для окремого кількісного та якісного виявлення ревматоїдних факторів IgA, IgG та IgM (РФ) у сироватці людини.

REF RE70341

 96

   2-8°C

EU:



I B L I N T E R N A T I O N A L G M B H

Flughafenstrasse 52a
D-22335 Гамбург, Німеччина

Телефон: +49 (0)40-53 28 91-0
Факс: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@IBL-International.com
www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1,
тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

Інструкція з експлуатації

Зміст

- 1 Призначене використання
- 2 Клінічне застосування та принцип аналізу
- 3 Вміст набору
- 4 Зберігання та термін зберігання
- 5 Заходи безпеки
- 6 Збір зразків, обробка та зберігання
- 7 Процедура аналізу
- 8 Кількісне та якісне тлумачення
- 9 Технічні дані
- 10 Характеристики виконання
- 11 Література

1 Цільове використання

Ревматоїдний фактор IgA / IgG / IgM ІФА - це твердофазний імуноферментний аналіз з високою очищеним Fc-фрагментом імуноглобуліну людини (IgG) для окремих кількісного і якісного виявлення ревматоїдних факторів IgG, IgM та IgA (РФ) в сироватці людини.

Аналіз - це допомога в діагностиці ревматоїдного артриту (РА).

2 Клінічне застосування та принцип аналізу

Ревматоїдні фактори (РФ), вперше описані в 1940 р. як антитіла, що реагують на гамма глобуліни, являють собою аутоантитіла, спрямовані проти С-кінцевої частини постійної області важкого ланцюга IgG, IgG Fc. Незважаючи на те, що названі ім'ям хвороби, з якою вони були спочатку асоційовані, РФ виявляються як у здорового населення, так і при кількох захворюваннях. Захворювання, які, як правило, пов'язані з високою концентрацією РФ - це ревматоїдний артрит (РА; 50-90%) та синдром Шегрена (75-95%).

Вони також виявляються при системному червоному вовчаку (СЧВ; 15-35%), системному склерозі (20-30%) поліміозиті / дерматоміозиті (5-10%), криоглобулінемії (40-100%) та змішаних захворюваннях сполучної тканини (MCTD; 50-60%).

Хоча наявність IgM РФ у сироватці крові вважається найважливішим серологічним показником для РА, таким чином включений до списку критеріїв АЦР для діагностики цього захворювання, РФ підкласу IgG та IgA також важливі для діагностики.

Визначення цих ізотипів надає додаткову інформацію стосовно діагнозу, диференціальна діагностика та спостереження за РА порівняно зі звичайними методами, такими як тест на аглютинацію латексу та нефелометрію. У той час як РФ підкласу IgM є найбільш чутливим до діагностики РА, таким чином, найбільш підходящим для скринінгу, РФ підкласу IgG є найбільш специфічним для РА та подібні підкласи IgA співвідносяться з клінічними параметрами та активністю захворювання.

Наявність усіх трьох підкласів разом є 100% специфічними для РА.

РФ при СЧВ пов'язані з синдромом Шегрена, гіпергаммаглобулінемією, високим титром антиядерних антитіл, анемією та, як правило, антитілами до SS-A та SS-B. Усі три підкласи знаходяться в СЧВ. Особливо підклас IgA визначає підгрупу пацієнтів із СЧВ, характеризованих чіткими аутоімунними явищами та високою активністю захворювання за відсутності нефриту.

Принцип тесту

Зразки сироватки, розведені 1: 101, інкубують у мікропланшетах, покритих специфічним антигеном. Антитіла пацієнта, якщо вони є в зразку, зв'язуються з антигеном. Незв'язана фракція змивається на наступному етапі. Згодом анти людські імуноглобуліни, кон'юговані з пероксидазою хрому (кон'югат), інкубують і реагують із комплексом антиген-антитіло зразків у мікропланшетах. Незв'язаний кон'югат змивається на наступному етапі. Додавання ТМБ-субстрату генерує ферментативну колориметричну (синю) реакцію, яку зупиняють розведеною кислотою (зміна кольору до жовтого). Інтенсивність формування кольору з хромогену є функцією кількості кон'югату, пов'язаного з комплексом антиген-антитіло, і це пропорційно початкова концентрація відповідних антитіл у зразку пацієнта.

3. Вміст набору

До відновлення				
найменування	кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Буфер зразка (5x)	1x20 мл	білий	жовтий	5 x концентрований Тріс, хлорид натрію (NaCl), альбумін бичачої сироватки (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Промивний буфер (50x)	1x20 мл	білий	зелений	50 x концентрований Тріс, NaCl, Твін 20, азид натрію <0,1% (консервант)
ГОТОВІ ДО ВИКОРИСТАННЯ				
Найменування	Кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	Опис/вміст
Негативний контроль	1x1,5 мл	зелений	Без кольору	Сироватка людини (розведена), альбумін сироватки великої рогатої худоби (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Позитивний контроль	1x1,5 мл	червоний	жовтий	Сироватка людини (розведена), альбумін сироватки великої рогатої худоби (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Пороговий калібратор	1x1,5 мл	синій	жовтий	Сироватка людини (розведена), альбумін сироватки великої рогатої худоби (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Калібратори	6x1,5 мл	білий	Жовтий*	Концентрація кожного калібратора: 0, 3, 10, 30, 100, 300 Од / мл Сироватка людини (розведена), сировина великої рогатої худоби альбумін (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Кон'югат , IgG IgM IgA	1x15 мл 1x15 мл 1x15 мл	синій зелений червоний	синій зелений червоний	Містять: Кон'юговані анти - людські імуноглобуліни до пероксидази хрому, альбумін сироватки великої рогатої худоби (BSA)
ТМБ субстрат	1x15мл	чорний	Без кольору	Стабілізований тетраметилбензидин та перекис водню (ТМБ / H ₂ O ₂)
Стоп розчин	1x15мл	білий	Без кольору	1М соляна кислота
Мікропланшет	12x8 лунок стріпи	НВ	НВ	З розбірними мікролунками. Дивіться пункт 1 для покриття.
*Колір збільшується з концентрацією				
Матеріали необхідні, але не надані				
Рідер мікропланшетів 450 нм, фільтр зчитування та рекомендований референтний фільтр 620 нм (600-690 нм). Скляний посуд (циліндр 100-1000мл), пробірки для розведень. Вихровий змішувач, точні піпетки (10, 100, 200, 500, 1000 мкл) або регульована багатоканальна піпетка (100-1000 мкл). Вошер для мікропланшетів (повторювана 300 мкл або багатоканальна піпетка або автоматизована система), папір-адсорбент. Наші тести призначені для використання з очищеною водою згідно з визначенням Фармакопеї США (USP 26 - NF 21) та Європейської фармакопеї (Eur.Ph. 4-е видання).				

4 Зберігання та термін придатності

Зберігайте всі реагенти та мікропланшети при температурі 2-8 ° C / 35-46 ° F в оригінальній тарі. Раз приготовані, відновлені розчини стабільні при 2-8 ° C / 35-46 ° F принаймні 1 місяць. Реагенти і мікропланшет повинен використовуватися протягом терміну придатності, зазначеного лише для кожного компонента. Уникайте інтенсивного впливу світла на розчин ТМБ. Зберігайте мікропланшети в призначеній фользі, включаючи осушувач, і герметично закритими.

5 Заходи безпеки

5.1 Дані про небезпеку для здоров'я

ЦЕ ПРОДУКЦІЯ ТІЛЬКИ ДЛЯ IN VITRO ДІАГНОСТИКИ. Таким чином, тільки навчений і спеціально тренований методам діагностики in vitro персонал може виконувати постановку набору. Хоча цей продукт не вважається особливо токсичним чи небезпечним в умовах передбачуваного використання, дотримуйтеся наступного для максимальної безпеки:

Рекомендації та запобіжні заходи

Цей набір містить потенційно небезпечні компоненти. Хоча набори реактивів не класифікуються як подразник для очей та шкіри, ми рекомендуємо уникати контакту з очима, шкірою та носити одноразові рукавички.

УВАГА ! Калібратори, контролі та буфери містять азид натрію (NaN₃) у вигляді консерванту. NaN₃ може бути токсичним при поглинанні або адсорбуванні шкіри або очей. NaN₃ може реагувати із свинцевою та мідною сантехнікою (водопроводом), щоб утворити азиди металів, які дуже вибухонебезпечні. При утилізації промийте великим об'ємом води для запобігання накопиченню азиду. Будь ласка, зверніться до процедури дезактивації, визначеної CDC або іншими місцевими / національними вказівками.

Не паліть, не їжте та не пийте під час маніпулювання набором. Не піпетуйте ротом.

Весь матеріал людського походження, який використовується для деяких реагентів цього набору (контролі, стандарти) перевірено затвердженими методами та виявило негативними для HbsAg, гепатиту С та ВІЛ 1.

Однак жоден тест не може гарантувати відсутність вірусних агентів у такому матеріалі повністю.

Таким чином, поводьтеся з контролями, стандартами та зразками пацієнтів як з ніби здатними передавати інфекційні захворювання та відповідно до національних вимог.

Набір містить матеріал тваринного походження, як зазначено в змісті, обробляти згідно до національних вимог.

5.2 Загальні вказівки щодо використання

У випадку, якщо інформація про товар, включаючи маркування, несправна або неправильна, будь ласка, зверніться до виробника або постачальника тестового набору.

Не змішуйте та не замінюйте контролі, калібратори, кон'югати або мікропланшети з різних партій. Це може призвести до відхилення результатів.

Дозвольте всім компонентам досягти кімнатної температури (20-32 ° C / 68-89,6 ° F) перед використанням, добре перемішайте та дотримуйтеся рекомендованої схеми інкубації для оптимального виконання тесту.

Інкубація: Ми рекомендуємо тестувати ефективність при 30 ° C / 86 ° F для автоматизованих систем.

Ніколи не піддавайте компоненти більш високій температурі, ніж 37 ° C / 98,6 ° F.

Завжди піпетуйте розчин субстрату тільки з абсолютно новими наконечниками. Захистіть цей реагент від світла.

Ніколи не піпетуйте кон'югат із наконечниками, які використовувались з іншими реагентами раніше.

Певний клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на результатах проведеного тесту, але повинен бути зроблений лікарем після оцінки всіх клінічних та лабораторних результатів. Діагноз повинен бути підтверджений за допомогою різних діагностичних методів.

6 Збір зразків, обробка та зберігання

Використовуйте переважно свіжо зібрані проби сироватки. Збір крові повинен відповідати національним вимогам. Не використовуйте жовтяничні, ліпемічні, гемолізовані або бактеріально забруднені зразки.

Сироватки з частинками повинні бути очищені центрифугуванням з низькою швидкістю (<1000 x g). Зразки крові слід збирати в чисті, сухі та порожні пробірки.

Після відділення зразки сироватки слід використовувати протягом перших 8 год відповідно, зберігати щільно закритими при 2-8 ° C / 35-46 ° F до 48 год, або замороженими при -20 ° C / -4 ° F довші періоди.

7 Процедура аналізу

7.1 Підготовка до початку

Розведені концентровані реагенти:

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

Концентрований буфер промивання 1:50 розвести дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 980 мл).

Щоб уникнути помилок, пропонуємо позначити ковпачки різних калібраторів.

Зразки:

Розбавляють зразки сироватки 1: 101 з буфером для зразків (1x)

напр. 1000 мкл буфера проби (1x) + 10 мкл сироватки. Добре перемішайте!

Промивання:

Приготуйте 20 мл розведеного промивного буфера (1x) на 8 лунок або 200 мл на 96 лунок, напр. 4 мл концентрату плюс 196 мл дистильованої води.

Автоматизоване промивання:

Розгляньте надмірні обсяги, необхідні для налаштування приладу та мертвого об'єму роботу піпетка.

Ручне промивання:

Видаліть рідину з лунок, перевернувши планшет. Постукайте тримачем з лунками догори дном енергійно о чистий абсорбуючий папір. Піпетуйте 300 мкл розведеного промивного буфера в кожен лунку, почекайте 20 секунд. Повторіть всю процедуру ще двічі.

Мікропланшети:

Обчисліть кількість лунок, необхідних для аналізу. Видаліть невикористані лунки з тримача, і зберігайте в наданому пластиковому пакеті разом із осушувачем, герметично закрийте (2-8 ° C / 35- 46 ° F).

7.2 Схема піпетування

Ми пропонуємо піпетування калібраторів, контролів та зразків наступним чином:

ПРИМІТКА. Якщо IgG, IgA та IgM визначаються паралельно, калібратори, контролі та зразки повинні бути виконані для кожного підкласу окремо.

	1	2	3	4		1	2	3	4
A	Кал А	Кал Е	P1			A	NC	P2	
B	Кал А	Кал Е	P1			B	NC	P2	
C	Кал В	Кал F	P2			C	CC	P3	
D	Кал В	Кал F	P2			D	CC	P3	
E	Кал С	PC	P3			E	PC		
F	Кал С	PC	P3			F	PC		
G	Кал D	NC				G	P1		
H	Кал D	NC				H	P1		



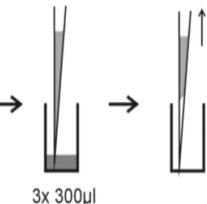

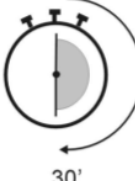
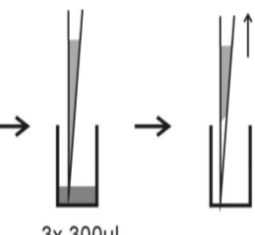
Кал А – калібратор А Кал D- калібратор D PC позитивний контроль


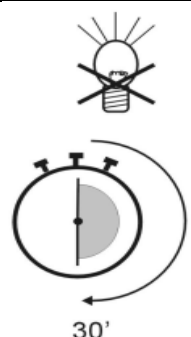
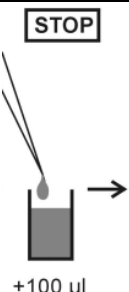
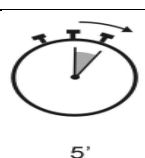
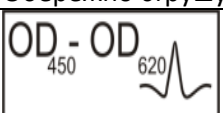
Кал В – калібратор В Кал Е – калібратор Е NC – негативний контроль

Кал С – калібратор С Кал F – калібратор F CC – пороговий контроль

P1- пацієнт1 P2- пацієнт 2 P3 – пацієнт 3

7.3. Кроки аналізу

крок	опис
1	Переконайтеся, що підготовка з етапу 7.1 вище була проведена перед піпетуванням.
2	Використовуйте наступні кроки відповідно до кількісної / якісної інтерпретації бажаних результатів:
КОНТРОЛІ/ЗРАЗКИ	
3	 <p>+100 µl</p>
4	 <p>30'</p> <p>Інкубуйте протягом 30 хвилин при 20-32 ° C / 68-89,6 ° F.</p>
5	<p>WASHB</p>  <p>3x 300µl</p>
6	<p>CONJ</p>  <p>+100 µl</p>
7	 <p>30'</p> <p>Інкубуйте протягом 30 хвилин при 20-32 ° C / 68-89,6 ° F.</p>
8	<p>WASHB</p>  <p>3x 300µl</p>

СУБСТРАТ	
9	
10	 <p>30' Інкубуйте протягом 30 хвилин при температурі 20-32 ° C / 68-89,6 ° F, захищенім від інтенсивного світла</p>
СТОП	
11	
12	 <p>5'</p>
13	Обережно струшуйте планшет протягом 5 сек.
14	 <p>450/620 nm Поглинання зчитувати при 450 нм (рекомендовано 450/620 нм) протягом 30 хвилин</p>

8 Кількісна та якісна інтерпретація

Для кількісної інтерпретації встановіть стандартну криву, побудувавши оптичну густину (ОГ) кожного калібратора (вісь y) щодо відповідних значень концентрації в од / мл (вісь x). Для найкращих результатів рекомендуємо координати журналу / прямої лінії та 4-параметричну відповідність. З ОГ кожного зразка, зчитують відповідні концентрації антитіл, виражені в од / мл.

Нормальний діапазон	Сумнівний діапазон	Позитивний результат
< 12 од/мл	12-18 од/мл	>18 од/мл

Приклад стандартної кривої

НЕ використовуйте цей приклад для інтерпретації результату пацієнта

Калібратор IgG/IgM	ОГ 450/620 нм	CV % варіабельність
0 од/мл	0,035	2,3
3 од/мл	0,138	2,6
10 од/мл	0,342	3,2
30 од/мл	0,632	3,2
100 од/мл	1,216	0,5
300 од/мл	2,178	0,1

Приклад розрахунку

Пацієнт	Повтор (ОГ)	Середнє (ОГ)	Результат (од/мл)
P01	0,872/0,922	0,897	54,7
P02	1,159/1,188	1,174	86,3

Зразки вище найвищого діапазону калібратора повинні бути вказані як > Макс. Вони повинні бути розбавлені, як годиться, і повторно аналізовані. Необхідно подавати зразки нижче діапазону калібратора як < Мін. Докладні відомості про партію див. у доданій листівці з контролю якості. Медичні лабораторії можуть працювати з внутрішнім контролем якості за допомогою власних засобів контролю та / або внутрішніх об'єднаних сироваток, як це передбачено національними норми.

Кожна лабораторія повинна встановити свій власний нормальний діапазон на основі власних методик, контролю, обладнання та населення пацієнтів відповідно до власних встановлених процедур.

Якщо значення контролів не відповідають критеріям, тест є недійсним і повинен бути повторений.

Слід перевірити наступні технічні проблеми: Терміни придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, прилади, фотометр, умови інкубації та методи промивання.

Якщо проаналізовані одиниці показують відхилені значення або будь-який вид відхилення або критерії валідації не виконуються без пояснювальних причин, будь ласка, зверніться до виробника або постачальника тестового набору.

Для якісної інтерпретації зчитують оптичну густину порогового калібратора та зразків пацієнта. Порівняйте ОГ пацієнта з ОГ порогового калібратора. Для якісної інтерпретації ми рекомендуємо розглянути сироватки в межах 20% навколо порогового значення як сумнівне. Усі зразки з більш високими ОГ вважаються позитивними, зразки з меншими ОГ вважаються негативними.

Негативне: ОГ пацієнта < 0,8x ОГ порогове
Сумнівне: 0,8x ОГ порогове ≤ ОГ пацієнта ≤ 1,2x ОГ порогове
Позитивне: ОГ пацієнта > 1,2x ОГ порогове

9 Технічні дані

Матеріал зразка: сироватка

Об'єм зразка: 10 мкл зразка, розведеного 1: 101, 1x буфером 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 лише оригінальні флакони.

Кількість визначень: 96 тестів

10 Дані про продуктивність

10.1 Аналітична чутливість

Тестування зразка буфера 30 разів набором ревматоїдний фактор IgA / IgG / IgM ІФА дало аналітичну чутливість 1,0 Од / мл.

10.2 Специфічність та чутливість

Мікропланшет покритий фрагментом Fc імуноглобуліну людини (IgG). Ні виявлено перехресної реактивності до інших аутоантигенів. Ревматоїдні фактори виявляються в 70-90% хворих на ревматоїдний артрит (РА).

10.3 Лінійність

Вибрані сироватки були протестовані за допомогою цього набору і виявлено, що вони розріджуються лінійно. Однак через неоднорідну природу аутоантитіл людини можуть бути зразки, які не впливають це правило.

Зразок №	Фактор розведення	Виміряне (од/мл)	Очікуване (од/мл)	Відновлення (%)
1	1/100	51,1	53,4	95,7
	1/200	25,2	26,7	94,4
	1/400	12,4	13,4	92,5
	1/800	6,3	6,7	94,0
2	1/100	135,1	138,0	97,9
	1/200	74,0	69,0	107,2
	1/400	32,1	34,5	93,0
	1/800	16,1	17,3	93,0

10.4 Точність

Для визначення точності аналізу оцінювали мінливість (в аналізі - та між аналізами) шляхом вивчення його відтворюваності на трьох зразках сироватки, відібраних для представлення діапазону стандартної кривої.

В аналізі			Між аналізами		
Зразок №	Середнє (од/мл)	CV (%)	Зразок №	Середнє (од/мл)	CV (%)
1	15,2	0,4	1	18,3	1,0
2	43,4	4,5	2	52,1	4,6
3	288,8	8,9	3	322,7	8,2

10.5 Калібрування

Через відсутність міжнародного еталонного калібрування цей аналіз калібрується у довільних одиницях (од / мл) для ревматоїдних факторів IgG та IgA. Для ревматоїдного фактора IgM аналіз калібрують проти міжнародного стандарту ВООЗ, результати наводяться в МО / мл.









11. Література

Peter JB, Shoenfeld Y (1996). Autoantibodies. Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.

Witte T, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH,

Schmidt RE (2000). Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group. Rheumatol Int 19: 107-111.


УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОВОГО (-ИХ) НАБОРУ (ІВ). ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург, Німеччина	Тел .: + 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11 E-MAIL: IBL@IBL-International.com WEB: http://www.IBL-International.com
--	--	---

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua