

Антитіла до парієтальних клітин ІФА
Імуноферментний аналіз
для кількісного та якісного виявлення антитіл до
парієтальних клітин у сироватці крові людини

REF **RE70891**



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 Hamburg, Germany

Phone: +49 (0)40-53 28 91-0
Fax: +49 (0)40-53 28 91-11

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

Інструкція з експлуатації

Зміст

1. Призначення
2. Клінічне застосування та принцип аналізу
3. Зміст набору
4. Зберігання та термін придатності
5. Заходи безпеки
6. Збір, обробка та зберігання зразків
7. Процедура аналізу
8. Кількісне та якісне тлумачення
9. Технічні дані
10. Дані про ефективність
11. Література

1. Призначення

Твердофазний імуноферментний аналіз антитіла до парієтальних клітин –АТРase для роздільного кількісного та якісного виявлення антитіл проти парієтальних клітин у сироватці людини. Антитіла до парієтальних клітин можна знайти при перниціозній анемії.

2. Клінічне застосування та принцип аналізу

Перниціозна анемія, найчастіше спричинена дефіцитом вітаміну В12 в Західній популяції, характеризується патологічними ураженнями очного дна і тіла шлунка. Атрофія слизової шлунка, селективна втрата парієтальних та головних клітин із слизової оболонки та лімфоцитарна інфільтрація підслизової оболонки є типовою картиною цього захворювання.

Перниціозна анемія характеризується аутоантитілами проти транспортуючого водень ферменту Н + К+-АТРase парієтальних клітин шлунка, що відповідає за закислення шлунку, аутоантитіла проти парієтальних клітин можна виявити за допомогою імунофлуоресценції у 80-90% пацієнтів із перниціозною анемією, але також у 2-5% здорових людей. Тестові системи ІФА для виявлення цих аутоантитіл демонструють чутливість близько 80% і специфічність приблизно 90%.

Принцип аналізу

Зразки сироватки, розведені 1: 101, інкубують у мікропланшетах, покритих специфічним антигеном. Антитіла пацієнта, якщо присутні в зразку, зв'язуються з антигеном. Незв'язану фракцію змивають на наступному етапі. Потім анти-людські імуноглобуліни, кон'юговані з пероксидазою хрому (кон'югат) інкубують і реагують із комплексом антиген-антитіло зразків в мікропланшетах. Незв'язаний кон'югат змивають на наступному етапі. Додавання ТМБ-субстрату породжує ферментативну колориметричну (синю) реакцію, яка зупиняється розведеною кислотою (колір змінюється на жовтий). Швидкість утворення кольору від хромогену - це функція кількості кон'югату, зв'язаного з комплексом антиген-антитіло, і це пропорційно початковій концентрації відповідних антитіл у зразку пацієнта.

3. Вміст набору

<i>До відновлення</i>				
найменування	кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	опис / вміст
Буфер зразку (5х)	1 x 20мл	білий	жовтий	5 x концентрованих Трис, хлорид натрію (NaCl), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Промивний буфер (50х)	1 x 20мл	білий	зелений	50 x концентрований Трис, NaCl, Твін 20, азид натрію <0,1% (консервант)
<i>Готові до використання</i>				
найменування	кількість	Колір ковпачка	Колір розчину	опис / вміст
Негативний контроль	1 x 1.5мл	зелений	Без кольору	Сироватка людини (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Позитивний контроль	1 x 1.5мл	червоний	жовтий	Сироватка людини (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Пороговий калібратор	1 x 1.5мл	синій	жовтий	Сироватка людини (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Калібратори	6 x 1.5мл	білий	жовтий *	Концентрація кожного калібратора: 0, 3, 10, 30, 100, 300 ОД / мл. Сироватка людини (розведена), бичачий сироватковий альбумін (BSA), азид натрію <0,1% (консервант)
Кон'югат, IgG	1 x 15мл	синій	синій	Містять: Імуноглобуліни проти людини, кон'юговані з пероксидазою хрому, бичачий сироватковий альбумін (BSA)
ТМБ Субстрат	1 x 15мл	чорний	Без кольору	Стабілізований тетраметилбензидин та перекис водню (ТМБ / H ₂ O ₂)
Стоп розчин	1 x 15мл	білий	Без кольору	1М соляна кислота
Мікропланшет	12 x 8 лунок	Не визначено	Не визначено	3 відокремленими мікролунками. Зверніться до пункту 1 щодо покриття.
* Color increasing with concentration				
<i>Матеріали потрібні, але не надані</i>				
Рідер мікропланшетів для мікропланшетів 450 нм і рекомендований референтний фільтр 620 нм (600-690 нм). Сляний посуд (балон 100-1000 мл), пробірки для розведення. Вихровий змішувач, точні піпетки (10, 100, 200, 500, 1000 мкл) або регульована мультипіпетка (100-1000 мкл). Пристрій для промивання мікропланшетів (300 мкл повторюваної або багатоканальної піпетки або автоматизованої системи), 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 видання).				

4 Зберігання та термін придатності

Зберігайте всі реактиви та мікропланшет при температурі 2-8 ° C / 35-46 ° F у оригінальних контейнерах. Після приготування розчинені розчини стабільні при 2-8 ° C / 35-46 ° F принаймні протягом 1 місяця. Реагенти та мікропланшет слід використовувати лише у термін придатності, зазначений на кожному компоненті. Уникайте інтенсивного впливу світла на розчин ТМБ . Зберігайте мікропланшети у призначеному пакеті з фольги, включаючи осушувач, та щільно закрийте.

5. Заходи безпеки

5.1. Дані про небезпеку для здоров'я

ЦЕЙ ПРОДУКТ ТІЛЬКИ ДЛЯ ДІАГНОСТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ IN VITRO. Таким чином, лише персонал, навчений та спеціально проінформований про методи діагностики in vitro, може виконувати аналіз з цим набором. Хоча цей продукт не вважається особливо токсичним або небезпечним в умовах передбачуваного використання, для максимальної безпеки зверніться до наступного:

Рекомендації та запобіжні заходи

Цей набір містить потенційно небезпечні компоненти. Хоча реагенти, що входять до складу, не класифікуються як подразнюючі для очей та шкіри, ми рекомендуємо уникати контакту з очима та шкірою та носити одноразові рукавички.

УВАГА ! Калібратори, контролі та буфери містять азид натрію (NaN_3) як консервант. NaN_3 може бути токсичним, якщо потрапляє всередину або адсорбується шкірою або очима. NaN_3 може реагувати зі свинцевим та мідним водопроводами, утворюючи високовибухонебезпечні азиди металів. При утилізації промити великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азидів. Будь ласка, зверніться до процедур дезактивації, як зазначено у CDC або інших місцевих / національних рекомендаціях.

Не куріть, не їжте і не пийте, маніпулюючи набором. Не піпетуйте через рот.

Весь вихідний матеріал для людини, що використовується для деяких реагентів цього набору (контролі, стандарти, наприклад), був протестований затвердженими методами і визнаний негативним щодо HbsAg, гепатиту С та ВІЛ 1. Однак жоден тест не може гарантувати відсутність вірусних агентів у такому матеріалі повністю. Таким чином, обробляйте засоби контролю, стандарти та зразки пацієнтів як би здатні передавати інфекційні захворювання та відповідно до національних вимог. Набір містить матеріал тваринного походження, як зазначено у змісті, обробляйте відповідно до національних вимог.

5.2. Загальні вказівки щодо використання

Якщо інформація про товар, включаючи маркування, є дефектною або неправильною, зв'яжіться з виробником або постачальником тестового набору. Не змішуйте та не замініюйте контролі, калібратори, кон'югати чи мікропланшети з різними номерами партій. Це може призвести до різниці в результатах.

Дайте всім компонентам досягти кімнатної температури ($20-32^{\circ}\text{C}$ / $68-89,6^{\circ}\text{F}$) перед використанням, добре перемішайте і дотримуйтесь рекомендованої схеми інкубації для оптимального виконання тесту.

Інкубація: для автоматизованих систем ми рекомендуємо проводити тест при 30°C / 86°F . Ніколи не піддавайте компоненти температурі вище 37°C . Завжди прокапуйте розчин субстрату лише новими наконечниками. Захистіть цей реагент від світла. Ніколи не піпетуйте кон'югат наконечниками, використовуваними з іншими реагентами. Точний клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися лише на результатах проведеного тесту, а повинен бути поставлений лікарем після оцінки всіх клінічних та лабораторних результатів. Діагноз слід перевірити за допомогою різних методів діагностики.

6. Збір зразків, обробка та зберігання

Використовуйте переважно свіжозібрані зразки сироватки. Забір крові повинен відповідати національним вимогам. Не використовуйте жовтяничні, ліпемічні, гемолізовані або бактеріально забруднені зразки. Сироватки з частинками слід очищати низькошвидкісним центрифугуванням ($<1000 \times g$). Зразки крові слід брати в чисті, сухі та порожні пробірки. Після розділення зразки сироватки слід використовувати протягом перших 8 годин, відповідно зберігати щільно закритими при температурі $2-8^{\circ}\text{C}$ / $35-46^{\circ}\text{F}$ до 48 годин або заморожувати при -20°C / -4°F протягом довгих періодів.

7. Процедура аналізу

7.1 Підготовка до початку

Розбавлені концентровані реагенти:

Розведіть концентрований буфер для зразків 1: 5 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 80 мл). Розведіть концентрований промивний буфер 1:50 дистильованою водою (наприклад, 20 мл плюс 980 мл). Щоб уникнути помилок, ми пропонуємо позначити ковпачки різних калібраторів та контролів.

Зразки:

Розведіть зразки сироватки 1: 101 буфером для зразків (1x) напр. 1000 мкл буфера для зразків (1x) + 10 мкл сироватки. Перемішайте добре!

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

Автоматизоване промивання:

Враховуйте надлишкові обсяги, необхідні для налаштування приладу, та мертвий обсяг робочої піпетки.

Ручне промивання:

Видаліть рідину з лунок, перевернувши планшет. Енергійно постукайте по чистому адсорбуючому паперу тримачем з лунками догори дном. Внесіть піпеткою по 300 мкл розведеного промивного буфера в кожную лунку, почекайте 20 секунд. Повторіть всю процедуру ще двічі.

Мікропланшети:

Обчисліть кількість лунок, необхідних для випробування. Вийміть невикористані лунки з рами, замініть та зберігайте у наданому поліетиленовому пакеті разом із осушувачем, щільно закрийте ($2-8^{\circ}\text{C}$ / $35-46^{\circ}\text{F}$).

7.2. Схема піпетування

Ми пропонуємо піпетувати калібратори, контролі та зразки наступним чином:

	1	2	3	4...
A	Кал А	Кал Е	П1	
B	Кал А	Кал Е	П1	
C	Кал В	Кал F	П2	
D	Кал В	Кал F	П2	
E	Кал С	ПК	П3	
F	Кал С	ПК	П3	
G	Кал D	НК	...	
H	Кал D	НК	...	

	1	2	3	4...
A	НК	П2		
B	НК	П2		
C	ПорК	П3		
D	ПорК	П3		
E	ПК	...		
F	ПК	...		
G	П1	...		
H	П1	...		

КалА: калібратор А

контроль

П2: пацієнт 2

КалВ: калібратор В

КалС: калібратор С

КалD: калібратор D

НК: негативний

КалF: калібратор F

КалЕ: калібратор Е

контроль

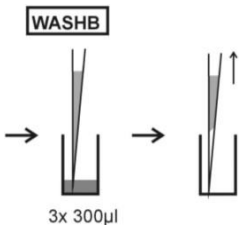
ПорК: пороговий калібратор

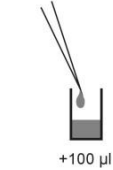
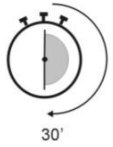
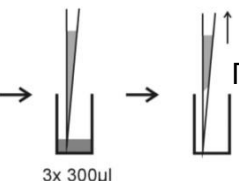
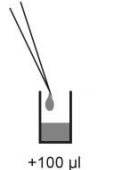
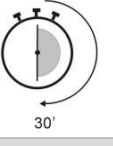
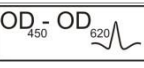
ПК: позитивний

П1: пацієнт 1

П3: пацієнт 3

7.1 Покрокова процедура аналізу

Крок	Опис
1.	Переконайтеся, що підготовка з кроку 7.1 вище була проведена до піпетування.
2.	Виконайте наступні кроки відповідно до бажаних кількісних / якісних результатів інтерпретації:
Контролі & зразки	
3.	Прокапайте піпеткою у призначені лунки, як описано в розділі 7.2 вище, 100 мкл будь - якого а. Калібратори (від Кал.А до Кал.Ф) для КІЛЬКІСНИХ або б. Пороговий калібратор (ПорК) для ЯКІСНОГО інтерп. і 100 мкл кожного з наступного: Негативний контроль (НК) та позитивний контроль (ПК), а також розведену сироватку пацієнтів (П1, П2 ...)
4.	 Інкубуйте 30 хвилин при 20-32 ° C / 68-89,6 ° F.
5.	 Промити 3 рази 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).

Кон'югат	
6.	CONJ  +100 µl Піпетують 100 мкл кон'югату в кожну лунку.
7.	 30' Інкубуйте 30 хвилин при 20-32 ° C / 68-89,6 ° F.
8.	WASHB  3x 300µl Промити 3 рази 300 мкл промивного буфера (розведений 1:50).
Субстрат	
9.	SUB  +100 µl Піпетують 100 мкл субстрату ТМБ у кожну лунку
10.	  30' Інкубуйте протягом 30 хвилин при 20-32 ° C / 68-89,6 ° F, захищеним від інтенсивного світла
СТОП	
11.	STOP  +100 µl Прокачайте 100 мкл стоп-розчину в кожну лунку, використовуючи той же Порядок, що і при піпетування субстрату
12.	 5' Інкубуйте мінімум 5 хвилин.
13.	Ретельно перемішуйте планшет протягом 5 сек
14.	OD₄₅₀ - OD₆₂₀  Зчитайте поглинання при 450 нм (рекомендовано 450/620 нм) протягом 30 хвилин

8. Якісна і кількісна інтерпретація

Для кількісної інтерпретації встановіть стандартну криву, побудувавши графічну оптичну густину (ОГ) кожного калібратора (вісь у) щодо відповідних значень концентрації в Од / мл (вісь х). Для найкращих результатів ми рекомендуємо координати журналу / лінії та 4-параметричну відповідність. З ОГ кожного зразка прочитайте відповідні концентрації антитіл, виражені в Од / мл.

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

Зразки стандартної кривої

Не використовувати цей приклад для інтерпретації результатів пацієнта

Калібратори Ig G	ОГ 450/620 нм	CV % (Варіабельність)
0 Од/мл	0.042	0.4
3 Од/мл	0.163	2.6
10 Од/мл	0.307	0.2
30 Од/мл	0.615	1.5
100 Од/мл	1.275	4.3
300 Од/мл	2.082	3.8

Зразки розрахунку :

Пацієнт	Повтор (ОГ)	Середнє (ОГ)	Результат (Од/мл)
П 01	1.376 / 1.389	1.383	122.5
П 02	0.610 / 0.620	0.615	33.3

Зразки, що перевищують діапазон калібратора, слід подавати як > Макс. Їх слід розбавити за необхідності та повторно проаналізувати. Зразки нижче діапазону калібратора слід подавати як <хв. Для конкретних даних партії див. Додану брошуру з контролю якості. Медичні лабораторії можуть здійснювати внутрішній контроль якості, використовуючи власні засоби контролю та / або внутрішні об'єднані сироватки, як це передбачено національними правилами. Кожна лабораторія повинна встановити свій власний нормальний діапазон на основі власних методів, засобів контролю, обладнання та популяції пацієнтів відповідно до своїх установлених процедур. Якщо значення контролів не відповідають критеріям, тест є недійсним і повинен бути повторений. Слід перевірити наступні технічні проблеми: Термін придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, пристрої, фотометр, умови інкубації та методи промивання. Якщо випробовувані предмети мають відхилені значення або будь-які відхилення або якщо критерії перевірки не виконуються без ясних причин, зв'яжіться з виробником або постачальником тестового набору. Для якісної інтерпретації прочитайте оптичну густину порогового калібратора та зразки пацієнта. Порівняйте ОГ пацієнта з ОГ калібратора. Для якісної інтерпретації ми рекомендуємо розглядати сироватки в діапазоні 20% навколо граничного значення як однозначні. Усі зразки з вищими ОГ вважаються позитивними, зразки з меншими ОГ вважаються негативними.

Негативний: ОГ пацієнта < 0.8 x ОГ порогове
 Сумнівний: 0.8 x ОГ порогове ≤ ОГ пацієнта ≤ 1.2 x ОГ порогове
 Позитивний: ОГ пацієнта > 1.2 x ОГ порогове

9. Технічні дані

Матеріал зразка:	сироватка
Об'єм зразка:	10 мкл зразка розведено 1:101 з 1х буфером зразка
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 2-8°C/35-46°F, використовуйте тільки оригінальні флакони
Кількість визначень:	96 тестів

10. Характеристики виконання

8.1 Аналітична чутливість

Випробування буфера зразків 30 разів на ІФА антитіла до парієтальних клітин дало аналітичну чутливість 1,0 Од / мл.

8.2 Специфічність та чутливість

Мікропланшет покритий з високо очищеним H⁺/K⁺- ATPase слизової оболонки шлунка свиней. Не було виявлено перехресної реактивності до до інших аутоантигенів. Аутоантитіла до парієтальних клітин можуть бути виявлені методом імуофлуоресценції в 80-90% пацієнтів з перніціозною анемією, але також може бути знайдено в 2-5% здорових індивідуумів. Тестові системи ІФА для виявлення цих аутоантитіл виявляють чутливість біля 80% та специфічність біля 90%.

10.3.Лінійність

Вибрані сироватки протестували за допомогою цього набору та виявили, що вони розбавляються лінійно. Однак через гетерогенну природу людських аутоантитіл можуть бути зразки, які не дотримуються цього правила

Зразок №	Коефіцієнт розведення	Виміряна концентрація (Од/мл)	Очікувана концентрація (од/мл)	Відновлення (%)
1	1 / 100	194.0	183.0	106.0
	1 / 200	95.0	91.5	103.8
	1 / 400	44.0	45.8	96.1
	1 / 800	21.0	22.9	91.7
2	1 / 100	93.0	96.0	96.9
	1 / 200	44.0	48.0	91.7
	1 / 400	26.0	24.0	108.3
	1 / 800	11.0	12.0	91.7

10.4 Точність

Для визначення точності аналізу оцінювали мінливість (внутрішньо- та міжаналітичну), досліджуючи її відтворюваність на трьох зразках сироватки, відібраних для представлення діапазону за стандартною кривою.

В-аналізі			Між-аналізами		
зразок No.	середн є (од/мл)	CV (%)	зразок No.	середн є (од/мл)	CV (%)
1	191.0	4.1	1	195.0	4.5
2	90.0	3.2	2	96.0	3.1
3	33.0	4.5	3	36.0	2.8

10.5.Калібрування

Через відсутність міжнародного еталонного калібрування цей тест калібрується в довільних одиницях (Од / мл).

11. Література

1. Gleeson PA, van Driel IR, Toh B-H (1996) Parietal cell autoantibodies.
In: Peter JB, Shoenfeld Y (eds.), Autoantibodies, pp 600-606, Elsevier, Amsterdam

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 подалі 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 ВКАЗАНОГО (-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	Тел .:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург,	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com
	Німеччина	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