



**Інструкція**  
**з використання тест-системи**  
**для визначення антикардіоліпінових антитіл в сироватці крові**  
**АТ до кардіоліпіну-ІФА**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 96 визначень з урахуванням холостих і калібрувальних проб при витраті реактивів відповідно цієї методики.

**Принцип методу**

У наданій тест-системі використовується принцип непрямого імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (кардіоліпін) вносять досліджуваний зразок. АТ до кардіоліпіну з зразка зв'язуються з антигеном на поверхні лунки. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. У лунку вносять кон'югат (антитіла проти IgG людини, мічені пероксидазою). Після повторної відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату, та вимірюється при довжині хвилі 450 nm (нм).

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості АТ до кардіоліпіну в зразку.

**Клінічне значення**

Антикардіоліпінові антитіла – це антитіла до фосфоліпідів клітинних мембран. Є основним показником наявності антифосфоліпідного синдрому (АФС) у хворих. В сироватці здорових людей антитіла до кардіоліпіна можуть бути присутні в незначній кількості, але при підвищенні цього рівня з'являється якісно нова реакція в системі гемостазу - порушується нормальне функціонування ендотелію кровоносних судин, виникає звуження судин і утворення судинних тромбів. При цьому уражаються судини серця, головного мозку, нирок, печінки, надниркових залоз. Високий титр антитіл часто супроводжується ризиком розвитку тромбозу вен, інфаркту міокарда.

Підвищення рівня антитіл є чутливим і специфічним лабораторним тестом, що характеризує ризик виникнення тромботичних ускладнень. При вагітності через тромбоемболічні пошкодження трофобласта та плаценти можлива загибель плоду, повторні викидні, відшарування плаценти, гіпотрофія та гіпоксія плоду.

Антикардіоліпінові антитіла з'являються при наступних захворюваннях: АФС, тромбоцитопенії, гемолітичній анемії, аутоімунних захворюваннях, красному вовчаку, ревматоїдному артриті, вузликівому периартеріїті, інфаркті міокарду, інсульті, нестабільній стенокардії, інфекціях (туберкульоз, лепра, стафілококова, стрептококова інфекції, кір, мононуклеоз, краснуха, СНІД), артеріальній гіпертензії, ендартеріїті, системному атеросклерозі, акушерській патології. Крім того, АФС може супроводжуватися неврологічною патологією, ураженням шкіри (сітчасте ливедо, шкірні виразки).

**Склад набору**

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір контролів, 0.15 ml (мл) (2 фл.)
4. Буфер для розведення зразків, концентрат 10x, 5 ml (мл) (1 фл.)
5. Відмиваючий розчин, концентрат 20x, 22 ml (мл) (1 фл.)
6. Кон'югат, 11 ml (мл) (1 фл.)
7. Субстрат, 11 ml (мл) (1 фл.)
8. Зупиняючий розчин, 11 ml (мл) (1 фл.)
9. Інструкція з використання
10. Паспорт

**Аналітичні характеристики**

Очікуванні межі оптичної щільності негативного контролю 0.1-0.3 оптичних одиниць (ОО).

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

**Матеріал для дослідження**

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 h (год) при 4-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

**Перелік необхідного устаткування**

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 µl (мкл).  
Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 nm (нм).

**Підготовка реагентів**

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 min (хв). До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте у 20 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 ml (мл) концентрату + 19 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5 d (доб) при кімнатній температурі або 30 d (доб) у холодильнику 4-10°C.
3. Приготуйте необхідну кількість розчину буферу для розведення зразків. Для цього концентрат розбавте у 10 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 ml (мл) концентрату + 9 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5 d (доб) при кімнатній температурі або 30 d (доб) у холодильнику 4-10°C.

**Проведення аналізу**

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 4 лунки для контролів та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 90 µl (мкл) розчину буферу для розведення заразків.
3. Внесіть у лунки 10 µl (мкл) контролів та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 40 min (хв) при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
5. Відмийте стрипи 3 рази відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 µl (мкл) кон'югату.
7. Інкубуйте 40 min (хв) при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
8. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
9. Внесіть у лунки 100 µl (мкл) субстрату.
10. Інкубуйте **15-20** min (хв) при температурі 20-25°C в темному місці.
11. Внесіть у лунки 100 µl (мкл) зупиняючого розчину.
12. Не більше як через 5 min (хв) виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на фотометрі при довжині хвилі 450 nm (нм). Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
13. Визначте концентрацію АТ до кардіоліпіну в досліджуваних зразках по формулі.

**Примітки**

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 µl (мкл) розчину ФСБ в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко перегорніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

**Оцінка результатів дослідження**

Для визначення наявності антитіл використовують індекс реакції (ІР):

$$IP = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{нег}}}$$

де:  $E_{\text{дос}}$  - оптична щільність досліджуваної сироватки,

$E_{\text{нег}}$  - оптична щільність негативного контролю.

**Референтні величини**

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

IP >2.2 свідчить про наявність антитіл. Враховуючи можливу похибку аналізу досліджувану сироватку вважають позитивною при IP >2.5.

IP ≤ 2.5 проба вважається негативною.

#### **Зберігання та стабільність**

Після розкриття пакета ретельно заклейте лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не допускається замороження!

#### **Вимоги безпеки та утилізації**

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

#### **Транспортування**








Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

#### **Гарантії виробника**

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

#### **Символи на продукції**

 Виробник	<b>Виготовлено:</b> Дата виробництва	<b>Придатно до:</b> Термін придатності	<b>Серія:</b> Номер
серії  Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання		
 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне	
обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів			