



Dr. Fenning
BioMed GmbH

fr-elisa

Autoimmune-Diagnostic

β 2-Glycoprotein 1-IgA

11024

Content:

English	2
Italian	4
German	6
Spanish	8
Portuguese	10
French	12
Greek	14
Technical Data	16
Explanation of symbols	17

Enzyme Immunoassay for the Detection of β₂-Glycoprotein 1-IgA

Product-No. 11024

Important Comments:

- Before use, please carefully read the instructions for the fr-elisa.
- The kit should be stored at 2-8°C. Do not freeze.
- Please notice the expiry date of all individual reagents and do not use them if overdue.
- Warm up the contents of the testkit to RT!
- Always open the foil pouch of the microtiterplate after reaching RT.
- Washing buffer and sample buffer are presented in a higher concentrated form compared to the working dilutions required in the test. After diluting the concentrated solutions, please regard the following use-by dates. Sample buffer as well as washing buffer diluted (stored at 2° - 8°C): 2 weeks.
- Do not mix up reagents of different fr-elisa Test Kit lots.

Clinical Significance:

New evidence is emerging that the presence of anti-phospholipid antibodies may not be the only cause involved in autoimmune thrombotic disorders. The binding of anti-cardiolipin antibodies was recently demonstrated to depend on the presence of cofactor β₂-glycoprotein 1 (β₂-GP 1), also known as apolipoprotein H. β₂-glycoprotein 1 is a 326-amino acid protein with an apparent molecular weight of 50 kD. Some studies suggest that β₂-glycoprotein 1 is the true antigen target for anti-phospholipid antibodies, whereas others postulate the formation of a cardiolipin / β₂-glycoprotein 1 complex as antigen target. Nevertheless, the binding of β₂-glycoprotein 1 to anionic lipids or surfaces is generally considered essential to differentiate between anti-cardiolipin antibodies associated with autoimmune diseases and anti-cardiolipin antibodies associated with infectious diseases like tuberculosis, leprosy, Lyme disease, AIDS, mononucleosis, hepatitis, etc. β₂-glycoprotein 1 without phospholipids is more specific to detect potential venous or arterial thrombosis. This specificity has been demonstrated by a close correlation between lupus anticoagulant and anti-β₂-glycoprotein 1 antibodies. In this study 88% of sera positive for anti-β₂-glycoprotein 1 antibodies also showed lupus anticoagulant activity, whereas only 18% of sera positive for lupus anticoagulant activity were negative for anti-β₂-glycoprotein 1 antibodies. The β₂-glycoprotein 1 autoantibody test is therefore more specific and it is useful to use it in addition to the traditional anti-cardiolipin and lupus anticoagulant tests for assessing the risk of thrombosis in a risk population.

- MC NEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN and KRILIS SA: 1990 *Proc Natl Acad Sci, USA* 87: 4120-4124
- GALLI M, COMFUTIUS P, MAASSEN C, HEMKER HC, DE BAETS MH, VAN BREDA-VRIESMAN PJC, BARBUI T, ZWAAL RFA and BEVERS EM: 1990 *Lancet* 335: 1544-1547
- MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K and KOIKE K: 1990 *Lancet* 336: 177-178
- ERICSON E, NAJMEY S, KEIL L, EL-KADI H and DE BARI: 1996 *Clinical Chemistry*, 42: 1-2
- VIARD JP, AMOURA Z and BACH JF: 1992 *Am J Med.* 93: 181-186

Principle of the Test:

The kits are solid-phase enzyme immunoassays. Microtiter wells are coated with affinity-purified human β₂-glycoprotein 1, cardiolipin cofactor. Antigen-precoated microplate wells are incubated with calibrators, controls and serum specimens. During the incubation, antibodies present in the test sample bind to the coated wells. Horseradish peroxidase-conjugated anti-human IgA is incubated in the wells to recognize the autoantibodies bound to the coated wells. At the end of each incubation, the unbound material is removed by aspirating and washing. Chromogen is added and autoantibodies are measured using a spectrophotometric plate reader.

Contents of the Test Kit:

- 12 x 8 coated microtiter test strips, prefixed in the frame
- 4 x calibrators, ready to use 3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml; 1000µl each. **Note: The calibration curve has to be prepared for 4 + 1 calibrators; the (prediluted) sample dilution buffer is used as "zero calibrator".**
- 1 x negative control serum; ready to use; 1000µl
- 1 x positive control serum; ready to use; 1000µl
- 1 x sample dilution buffer (**ochre** coloured); 5-fold concentration; 20ml
- 1 x enzyme conjugate solution (**green** coloured); 15ml
- 1 x washing buffer; 20-fold concentration; 50ml
- 1 x substrate solution (TMB); 15ml
- 1 x stop solution, 10ml
- data sheet: measuring range of control sera of the test
- product information
- pipetting scheme

Test Performance:

We recommend the usage of multi-channel pipette and an automatic washer to achieve high synchronous incubation times and high performance for all calibrators and samples used in the assay.

Preliminary steps:

- operate the test kit at room temperature
- always open the foil pouch after reaching RT
- dilute the sample dilution buffer **ochre** (1 part) with distilled water (4 parts). Total volume = 100ml
- dilute the washing buffer (1part) with distilled water (19 parts). Total volume = 1000 ml
- the patient sera must be diluted 1:101 prior to use.
Dispense 10µl specimen into 1 ml diluted sample buffer **ochre**.
- the calibrators are ready to use
- the positive and negative control sera are ready to use
- the enzyme conjugate solution **green** is ready to use
- the chromogen (TMB) has to be used without any influence of light. After usage it has to be stored protected from light
- Unused test strips should be promptly resealed in the foil pouch with desiccant and stored at 2-8°C.
- **Handle the stop solution carefully! Sulphuric Acid**

Test Procedure:

- **100µl of the serum dilution**, the undiluted **calibrators** and the undiluted **control sera** are pipetted into the wells. It is recommended to perform repeat determinations and "blanks" (sample dilution buffer **ochre**, pre-diluted)
- Incubate **30 minutes** at room temperature
- rinse the microtiter plate three times using at least 300µl washing buffer for each well and each washing step. Remove traces of remaining buffer out of the wells by blotting thoroughly on absorbent paper after the last wash. Attention: incomplete washing and aspiration of wells may lead to decreased precision.
- add **100µl of enzyme conjugate** solution **green** to each well
- incubate **30 minutes** at room temperature
- discard enzyme tracer from wells and wash plate as described above.
- add **100µl of chromogen** (TMB) to each well
- incubate **30 minutes** completely protected from light at room temperature
- add **50µl of stop solution** in the same order as chromogen
- determine the optical extinction at **450nm** within 30 min after completing the assay.

Evaluation of the Test:

The extinctions determined for the calibration points are marked versus the concentrations of the standard solutions semilogarithmically (3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml). A calibration curve is thus obtained by drawing a best-fit line (four parameters) through the points. Directly from the calibration curve, read the concentration of each analyte.

β2-Glycoprotein 1-IgA values lower than 4 SA U/ml are judged as negative.

Cut-off = 4 SA U/ml

Interpretation of results depends on the specific clinical application of the test: each laboratory should establish its own clinically relevant ranges for the population taken into consideration. A specimen with equivocal antibody levels should be tested again; if it remains equivocal, the result should be reported as equivocal and/or an additional sample should be taken for testing according to physician judgment.

The test can be evaluated if the positive control serum is determined in the range given by the data sheet and if in the same time the negative control is found below the "Cut-Off" value.

Precautions:

For in-vitro diagnostics only! Standard and control sera are of human origin. The sera were tested and found to be negative for HBsAg, Hepatitis C, and HIV. Nevertheless all reagents should be regarded as potential infectious and thus handled with the care required. Rules for handling human sera have to be obeyed.

Warning: Some reagents contain Sodium Azide. Sodium Azide can form explosive Metal Azides with plumb and copper. Residuals of reagents should be removed with water carefully. Some reagents contain small amounts of Thimerosal (<0.1% w/v). Substrate contains 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine. The stop solution contains 2,6% Sulphuric Acid. Therefore handle all components as if potentially hazardous.

Saggio immunologico per la determinazione di β 2-Glycoprotein 1-IgA

Prodotto No. 11024

Avvertimenti importanti:

- Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il kit fr-elisa.
- Il kit deve essere mantenuto a 2-8°C. Non congelare.
- Non usare il kit oltre la data di scadenza indicata per ogni reagente individuale.
- Portare tutti reagenti ed i campioni a temperatura ambiente!
- Sempre aprire il sacchetto d'alluminio una volta raggiunta la temperatura ambiente.
- Il tampone di lavaggio e il diluente dei campioni sono contenuti in una concentrazione più alta che quella richiesta per le soluzioni durante il test. Dopo aver diluito le soluzioni concentrate, rispettare i dati seguenti di scadenza: Diluente dei campioni e il tampone di lavaggio diluito (conservati a 2-8°C): 2 settimane.
- Non mischiare i reagenti appartenenti a lotti diversi di kit fr-elisa.

Significato clinico:

È una osservazione recente che la presenza di anticorpi anti-fosfolipidi può non essere l'unica causa di problemi trombotici dovuti a malattie autoimmuni. È stato recentemente dimostrato che il legame degli anticorpi anti-cardiolipina dipende dalla presenza del cofattore β 2-glicoproteina 1 (β 2-GP 1), noto anche con il nome di apolipoproteina H. La β 2-glicoproteina 1 è una proteina formata da 326 residui aminoacidici con peso molecolare apparente di 50 kD. Alcuni studi suggeriscono che la β 2-glicoproteina 1 sia veramente l'antigene bersaglio per gli anticorpi antifosfolipina, mentre altri ipotizzano la formazione di un complesso tra cardiolipina e β 2-glicoproteina 1 che agisce come antigene bersaglio. Tuttavia, il legame della β 2-glicoproteina 1 alle superfici o ai lipidi anionici è generalmente considerato essenziale per differenziare tra anticorpi anti-cardiolipina associati a malattie autoimmuni e anticorpi anti-cardiolipina associati a malattie infettive come tubercolosi, lebbra, malattia di Lyme, AIDS, mononucleosi, epatite, etc. Il test diviene più specifico per rilevare problemi di coagulazione potenziali usando solo la β 2-glicoproteina 1 ed eliminando i fosfolipidi dalla fase solida. Questo aumento di specificità è stato dimostrato da una correlazione stretta tra LAC (lupus anticoagulant activity) e anticorpi anti- β 2-glicoproteina 1. In questo studio l'88% di sieri positivi per anticorpi anti- β 2-glicoproteina 1 erano positivi anche per LAC, mentre solo il 18% dei sieri positivi per LAC erano negativi per anticorpi anti- β 2-glicoproteina 1. Il test per autoanticorpi anti- β 2-glicoproteina 1 è più specifico ed è utile per l'uso in concomitanza con i test tradizionali anti-cardiolipina e LAC per determinare il rischio di trombosi nella popolazione a rischio.

- MC NEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN and KRILIS SA: 1990 *Proc Natl Acad Sci, USA* 87: 4120-4124
- GALLI M, COMFUTIUS P, MAASSEN C, HEMKER HC, DE BAETS MH, VAN BREDA-VRIESMAN PJC, BARBUI T, ZWAAL RFA and BEVERS EM: 1990 *Lancet* 335: 1544-1547
- MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K and KOIKE K: 1990 *Lancet* 336: 177-178
- ERICSON E, NAJMEY S, KEIL L, EL-KADI H and DE BARI: 1996 *Clinical Chemistry*, 42: 1-2
- VIARD JP, AMOURA Z and BACH JF: 1992 *Am J Med.* 93: 181-186

Principio del dosaggio:

I kit sono dosaggi immunoenzimatici in fase solida. I pozzetti della micropiastra sono rivestiti con β 2-glicoproteina 1 umana, che è il cofattore della cardiolipina, purificata con cromatografia di affinità. I pozzetti della micropiastra rivestiti di antigene vengono incubati con i calibratori, i controlli e i campioni di siero. Durante l'incubazione, l'anticorpo presente nel campione in esame lega i pozzetti rivestiti. I pozzetti vengono quindi incubati con IgA coniugate con perossidasi di rafano dirette contro le diverse classi anticorpali umane. Al termine di ciascuna incubazione il materiale non legato è rimosso mediante aspirazione e lavaggio. Si aggiunge il cromogeno e si esegue una misura degli autoanticorpi mediante un lettore spettrofotometrico.

Materiali forniti con ogni kit:

- 12 x 8 strip da microtitolazione rivestite.
- 4 x calibratori, pronto per l'uso, 3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml; 1000 μ l ognuno. **Nota: La curva di calibrazione deve essere preparata per 4 + 1 calibratori; usare il diluente dei campioni come "calibratore zero".**
- 1 x siero controllo negativo, pronto per l'uso; 1000 μ l
- 1 x siero controllo positivo, pronto per l'uso; 1000 μ l
- 1 x diluente dei campioni (colore **ocra**); concentrazione 5x; 20ml
- 1 x tracciante enzimatico (colore **verde**); 15ml
- 1 x tampone di lavaggio; concentrazione 20x; 50ml
- 1 x cromogeno (TMB); 15ml
- 1 x soluzione di stop; 10ml
- Scheda tecnica: intervallo misurato per i controlli
- Informazioni sul prodotto

- schema di pipettare

Procedimento:

Per un risultato migliore e un tempo ottimo di incubazione, utilizzare una pipetta multicanali e una apparecchiatura automatica per il lavaggio.

Preparazione:

- Portare a temperatura ambiente il kit
- Sempre aprire il sacchetto sigillato dopo aver raggiunto la temperatura ambiente
- Il diluente dei campioni **ocra** (1 porzione) deve essere diluito con acqua distillata (4 porzioni). Volume totale = 100ml
- Il tampone di lavaggio (1 porzione) deve essere diluito con acqua distillata (19 porzioni). Volume totale = 1.000 ml
- I campioni devono essere diluiti 1:101 prima del uso.
Distribuire 10 µl di campione in 1 ml di diluente campioni **ocra** diluito.
- I calibratori sono pronti per l'uso.
- I controlli positivi e negativi sono pronti per l'uso.
- Il tracciante enzimatico **verde** è pronto per l'uso.
- Proteggere il cromogeno (TMB) dalla luce. Dopo l'uso conservare il cromogeno lontano dalla luce
- I pozzetti della piastra non utilizzati durante l'analisi devono essere prontamente risigillati nel sacchetto e conservati a 2-8°C.
- **Maneggiare la soluzione di stop con grande attenzione! Acido solforico**

Procedura di analisi:

- Distribuire **100µl dei campioni diluiti** in esame, dei **calibratori** non diluiti e dei **controlli** non diluiti nei rispettivi pozzetti. Raccomandiamo di ripetere determinazioni e "bianco" (diluente campioni ocra, prediluito)
- Incubare per **30 minuti** a temperatura ambiente.
- Lavare tre volte la piastra da microtitolazione con almeno 300µl di tampone di lavaggio per ogni pozzetto e lavaggio. Eliminare le tracce di tampone dei pozzetti con carta assorbente dopo il ultimo lavaggio. Attenzione: Lavaggio e aspirazione incomplete dei pozzetti possono comportare una diminuzione della precisione.
- Distribuite **100µl di tracciante enzimatico verde** in tutti i pozzetti.
- Incubare a temperatura ambiente per **30 minuti**.
- Eliminare il tracciante enzimatico dai pozzetti e lavare la piastra come descritto prima.
- Distribuire **100µl di cromogeno** (TMB) nei pozzetti.
- Incubare per **30 minuti** al riparo dalla luce
- Distribuire **50µl di soluzione di stop** seguendo lo stesso ordine utilizzato per dispensare il cromogeno
- Misurare l'assorbanza a **450nm** entro 30 minuti dal completamento dell'analisi

Interpretazione dei risultati:

Riportare su grafico semi-log i valori di assorbanza di ciascun punto di calibrazione in funzione della concentrazione dei sieri standard (3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml). Si ottiene una curva di taratura, tirando una linea (quattro parametri) attraverso i punti. Direttamente della curva di taratura leggere la concentrazione di ciascun analite.

I valori di β2-Glycoprotein 1-IgA inferiore a 4 SA U/ml sono classificati negativi.

Cut-off = 4 SA U/ml

L'interpretazione del risultato analitico è anche funzione dell'applicazione specifica del saggio. Pertanto ogni laboratorio dovrà definire i propri intervalli di significatività clinica in base alla popolazione considerata. Un campione con classificazione dubbia va testato nuovamente, se il valore permane dubbio, va classificato come tale e/o va analizzato un altro campione secondo il giudizio del medico.

L'analisi è valida quando il controllo positivo rientra nell'intervallo riportato sulla scheda tecnica e quando il controllo negativo rimane sotto il valore limite.

Precauzioni:

Per diagnostico in vitro solo! Tutti i campioni sono di origine umana. I sieri sono stati analizzati e trovati non reattivi per HbsAg, anti-HCV e per anti-HIV. Tuttavia, tutti i reagenti dovrebbe essere considerati potenzialmente infettivo e manipolato come tale. Ogni prodotto di origine umana con tutte le precauzioni del caso.

Attenzione: Alcuni reagenti contengono sodio azide. Il sodio azide può formare azidi metalliche con piombo e rame. Lavare accuratamente con acqua i reagenti residuali. Alcuni reagenti contengono livelli bassi di thimerosal (<0,1% w/v). Substrato contiene 3,3',5,5' tetrametilbenzidina. La soluzione di stop contiene 2,6% di acido solforico. Perciò ogni prodotto deve essere trattato come se fosse potenzialmente rischioso.

Enzymimmunoassay für die Bestimmung von β 2-Glykoprotein 1-IgA Antikörpern

Artikel Nr.: 11024

Wichtige Hinweise:

- Vor Gebrauch des fr-elisa Testkits bitte die Produktinformation gründlich durchlesen.
- Der Testkit soll bei 2-8° C gelagert werden. Nicht einfrieren!
- Vor Gebrauch den Inhalt der Testkitpackung auf Raumtemperatur bringen!
- Den Plattenbeutel stets erst nach Erreichen der RT öffnen!
- Waschpuffer und Probenpuffer liegen in konzentrierter Form vor. Nach Verdünnung der Puffer sind sie 2 Wochen bei 2°-8° C haltbar.
- Die aufgedruckten Verfalldaten der einzelnen Reagenzien beachten und gegebenenfalls nicht mehr verwenden.
- Reagenzien aus verschiedenen fr-elisa Testkitchargen dürfen nicht gemischt werden.

Klinische Bedeutung

Es ist bekannt, dass Antiphospholipid Antikörper nicht alleine bei autoimmunen, thrombotischen Erkrankungen auftreten. Die Bindung von Anti-Cardiolipin Antikörpern ist abhängig von der Anwesenheit des Cofaktors β 2 Glykoprotein I (β 2 GPI), auch Apolipoprotein H genannt. β 2 GPI ist ein 326 Aminosäuren langes Protein mit dem ungefähren Molekulargewicht von 50 kDa. Einige Wissenschaftler vermuten, dass das β 2 GPI - das eigentliche Antigen Target - der Anti-Phospholipid Antikörper ist. Andere Wissenschaftler postulieren den Phospholipin/ β 2 GPI-Komplex als Antigen Target. Unabhängig von dieser Frage ist generell akzeptiert, dass die Bindung des β 2 GPI an anionische Lipide bzw. oder Oberflächen essentiell für die differenzierte Bestimmung von Anti-Cardiolipin Antikörpern ist. Im Gegensatz zu den Anti-Cardiolipin Antikörpern, die bei Patienten mit infektiösen Erkrankungen wie Tuberkulose, Lepra, Lyme Erkrankung, AIDS, Mononukleose, Hepatitis usw. bestimmt werden, sind die zuerst genannten mit einer autoimmunen Erkrankung assoziiert. Durch die Verwendung von reinem β 2 GPI (Phospholipide sind von der Festphase eliminiert) erhöht sich die Spezifität des Tests potentielle Coagulationsstörungen zu detektieren. Diese gesteigerte Spezifität ist von einigen Gruppen gezeigt worden. Viard fand zusammen mit seinen Mitarbeitern eine gute Korrelation zwischen dem Lupus Anticoagulant Test und β 2 GPI Antikörpern. In dieser Studie waren 88% der Seren, die β 2 GPI Antikörper aufwiesen auch im Lupus Anticoagulant Test aktiv. Umgekehrt waren nur 18% der im Lupus Anticoagulant Test aktiven Seren, β 2 GPI negativ. Der β 2 GPI Autoantikörper-Test ist dank der erhöhten Spezifität sehr nützlich und stellt in Verbindung mit den bisherigen Tests (Anti-Cardiolipin Antikörper und Lupus Anticoagulant Test) einen weiteren Parameter, um die Thrombosegefahr bei Risikopatienten einzuschätzen.

1. McNeil, H.P. Simpson, R.J. Chesterman, C.N. and Krilis, S.A., 1990 *Proc Natl Acad Sci, USA* 87: 4120-4124
2. Galli, M. Comfutius, P. Maassen, C. Hemker, H.C. DeBaets, M.H. Van Breda-Vriesman, P.J.C. Barbui, T. Zwaal, R.F.A. and Bevers E.M., 1990 *Lancet* 335: 1544-1547
3. Matsuura, E. Igarashi, Y. Fujimoto, M. Ichikawa, K. and Koike, K., 1990 *Lancet* 336: 177-178
4. Ericson, E. Najmey, S. Keil, L. El-Kadi, H. and de Bari, 1996 *Clinical Chemistry*, 42: 1-2
5. Viard, J.P. Amoura, Z. and Bach, J.F. 1992 *Am J Med.* 93: 181-186

Testprinzip

Die Mikrotiterplatten sind mit affinitäts-gereinigtem, humanem β 2-Glykoprotein 1, einem Cardiolipin-Kofaktor, beschichtet. Die mit Antigen beschichtete Mikrotiterplatte wird mit Kalibratoren, Kontrollen und Serumproben inkubiert. Während der Inkubation binden vorhandene Antikörper der zu testenden Probe in den vorbehandelten Vertiefungen. Meerrettich-Peroxidase gebundenes IgA-Konjugat, wird anschließend inkubiert und erkennt die gebundenen Autoantikörper. Am Ende jeder Inkubation werden nicht gebundene Partikel durch Absaugen und Waschen der Kavitäten entfernt. Anschließend wird ein Chromogen hinzugefügt und die Konzentration der Autoantikörper mit einem Spektralphotometer bestimmt.

Inhalt des Testkits

- 12 x 8 beschichtete Kavitäten im Rahmen vorgesteckt.
- 4 x Kalibratoren (gebrauchsfertig) 3,125 SA U/ml; 12,5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml, je 1000 μ l.
Achtung: Die Standardkurve wird mit 4 + 1 Kalibratoren angesetzt; der (verdünnte) Probenpuffer wird als „Nullkonzentration“ verwendet.
- 1 x Negativ-Kontrollserum (gebrauchsfertig), 1000 μ l
- 1 x Positiv-Kontrollserum (gebrauchsfertig), 1000 μ l
- 1 x Probenverdünnungspuffer (**Ocker** eingefärbt), 5-fach konzentriert, 20ml
- 1 x Enzymkonjugatlösung (gebrauchsfertig, **Grün** eingefärbt), 15ml
- 1 x Waschpuffer 20-fach konzentriert, 50ml
- 1 x Substratlösung (TMB) gebrauchsfertig, 15ml
- Stopplösung, 10ml
- Datenkontrollblatt mit Messbereich für Kontrollseren

- Gebrauchsanweisung
- 1 Click Clip zum Wiederverschließen des Alubeutels

Durchführung

Wir empfehlen die Verwendung einer Mehrkanalpipette und eines automatischen Washers, um eine möglichst gleiche Inkubationszeit und präzise Durchführung in allen Kavitäten zu erreichen.

Vorbereitende Schritte:

- den Inhalt der Testkitpackung auf Raumtemperatur temperieren!
 - Plattenbeutel stets erst nach Erreichen der RT öffnen
 - Probenverdünnungspuffer **Ocker** (1 VT) mit Aqua dest. (4 VT) verdünnen. Gesamtvolumen = 100ml
 - Waschpuffer (1 VT) mit Aqua dest. (19 VT) verdünnen. Gesamtvolumen = 1000ml
 - Patientenseren mit verdünntem Probenpuffer **Ocker** 1 : 100 verdünnen (10µl auf 1ml)
 - die Kalibratoren sind gebrauchsfertig
 - Positiv- und Negativ-Kontrollserum sind gebrauchsfertig
 - die Enzymkonjugatlösung **Grün** ist gebrauchsfertig
 - Substrat (TMB) lichtgeschützt inkubieren. Nach Benutzung Rest wieder bei 2 - 8°C lichtgeschützt aufbewahren
 - Unverbrauchte Teststreifen und mitgelieferten Trockenbeutel mit Hilfe der beiliegenden Verschlussklammer im Alubeutel fest verschließen und bei 2 - 8°C lagern
 - Stopplösung sorgsam handhaben
- Vorsicht!** Schwefelsäure

Testansatz:

- **100µl Serumverdünnungen** zusammen mit den unverdünnten **Kalibratoren** und **Kontrollseren** in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren. Es empfehlen sich Doppelbestimmungen und „Blanks“ (nur Probenverdünnungspuffer **Ocker** vorverdünnt)
- **Inkubation 30 Minuten** bei Raumtemperatur
- 3 x Waschen der Platte mit mindestens 300µl Waschpuffer je Kavität und Waschzyklus (Restflüssigkeit auf saugfähigem Papier ausschlagen, Achtung: unvollständiges Waschen und Absaugen der Kavitäten kann zu einer verminderten Präzision der Ergebnisse führen.
- **100µl Enzymkonjugatlösung Grün** je Kavität pipettieren
- **Inkubation 30 Minuten** bei Raumtemperatur
- 3 x Waschen der Platte wie oben beschrieben
- **100µl Substrat** (TMB) je Kavität pipettieren
- **Inkubation 30 Minuten** lichtgeschützt bei Raumtemperatur
- **50µl Stopplösung** im gleichen Muster wie Substratlösung pipettieren
- Messung der Optischen Dichte bei **450nm** innerhalb von 30 Minuten nach dem Abstoppen.

Auswertung

Die gemessenen Extinktionen der Eichpunkte werden gegen die Konzentrationen der Standards semilogarithmisch aufgetragen (3,125 SM U/ml; 12,5 SM U/ml; 50 SM U/ml; 100 SM U/ml). Die β 2-Glykoprotein 1-Antikörper-Konzentration der getesteten Seren wird mittels der Eichkurve bestimmt.

β 2-Glykoprotein 1-IgA Konzentrationen kleiner als 4 SA U/ml sind negativ.

cut-off = 4 SA U/ml

Die Interpretation der Ergebnisse ist abhängig von der spezifischen klinischen Indikation für den Test. Darüber hinaus sollte jedes Labor eigene klinisch relevante Richtwerte für seine betrachtete Population etablieren.

Proben, die im Bereich um den cut-off liegen, sollten erneut getestet werden. Bleibt das Ergebnis grenzwertig, sollte es auch als grenzwertig vermittelt werden. Gegebenenfalls sollte eine weitere Probe des Patienten genommen und gemessen werden.

Der Test kann bewertet werden, wenn die Positivkontrolle innerhalb des auf dem Datenblatt angegebenen Bereiches und die Negativkontrolle unterhalb des cut-offs liegen.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur für in-vitro Diagnostik! Die Kalibratoren und Kontrollseren in diesem Test sind humanen Ursprungs. Die Seren sind getestet auf HBsAg, HIV I und HIV II und für negativ befunden. Trotzdem sollten alle Reagenzien und Proben als potentiell infektiös angesehen werden. Vorschriften zum Umgang mit Patientenseren müssen eingehalten werden.

Achtung: Einige Reagenzien enthalten Natriumazid (<0,1% w/v). Natriumazid kann mit Blei und Kupfer explosive Metallazide bilden. Reagenzienreste sollten daher mit reichlich Wasser verdünnt beseitigt werden. Einige Reagenzien enthalten Thimerosal (<0,1% w/v). Die Substratlösung enthält 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin. Die Stopplösung enthält reizend wirkende 2,6 %ige Schwefelsäure.

Immunoensayo enzimático para la detección de β 2 glucoproteína 1-IgA

Producto no. 11024

Notas importantes:

- Antes del uso, lea atentamente las instrucciones fr-elisa.
- El kit debe conservarse a una temperatura de 2-8°C. No lo congele.
- Observar las fechas de caducidad de todos reactivos y no los use pasadas estas fechas.
- Atemperar el contenido del kit hasta temperatura ambiente!
- Siempre abra la bolsa metalizada que contiene las microplacas después de alcanzar la temperatura ambiente.
- El tampón de lavado y el diluyente de muestras se presentan en foma concentrada. Aténgase a las siguientes fechas de caducidad después de haber diluido las soluciones concentradas. Diluyente de muestras y tampón de lavado una vez diluidos (conservados a 2 - 8 °C): 2 semanas.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes de kits fr-elisa.

Significado clínico:

Se dispone de nuevas evidencias de que la presencia de anticuerpos antifosfolípidos puede no ser la única causa implicada en los trastornos tromboticos autoinmunes. Se ha demostrado recientemente que la unión de los anticuerpos anticardiolipina depende de la presencia del cofactor β 2-glucoproteína 1 (β 2-GP 1), también conocido como apolipoproteína H. La β 2-glucoproteína 1 es una proteína de 326 aminoácidos con un peso molecular aparente de 50 kD. Algunos estudios sugieren que la β 2-glucoproteína 1 es el auténtico antígeno objetivo para los anticuerpos antifosfolípidos, mientras que otros estudios postulan que la formación de un complejo cardiolipina / β 2-glucoproteína 1 es el antígeno objetivo. Sin embargo, generalmente se considera que la unión de la β 2-glucoproteína 1 a los lípidos aniónicos o a las superficies es esencial para diferenciar entre los anticuerpos anticardiolipina asociados con enfermedades autoinmunes y los anticuerpos anticardiolipina asociados con enfermedades infecciosas tales como la tuberculosis, la lepra, la enfermedad de Lyme, el SIDA, la mononucleosis, la hepatitis, etc. La β 2-glucoproteína 1 sin fosfolípidos es más específica para detectar una posible trombosis venosa o arterial. Esta especificidad se ha demostrado mediante una estrecha correlación entre los anticuerpos anticoagulantes lúpicos y los anticuerpos anti- β 2-glucoproteína 1. En este estudio, el 88% de los sueros positivos para anticuerpos anti- β 2-glucoproteína 1 también mostraron actividad anticoagulante lúpica, mientras que sólo el 18% de los sueros positivos para actividad anticoagulante lúpica fueron negativos para anticuerpos anti- β 2-glucoproteína 1. Por lo tanto, el ensayo para autoanticuerpos β 2-glucoproteína 1 es más específico y es útil para utilizarse adicionalmente a los ensayos tradicionales anticardiolipina y del anticoagulante lúpico para la evaluación del riesgo de trombosis en una población de riesgo.

- CRONIN ME, BISWAS RM, VAN DER STRAETON C, FLEISCHER TA et al.: IgG and IgM anticardiolipin antibodies in lupus anticardiolipin antibody associated clinical syndromes. J. Rheumatol., 15: 795-798 (1988).
- HARRIS EN. Solid-phase anticardiolipin test revisited [editorial], Am. J. Med., 85: 599-601 (1988).
- WILSON WA; GHARAVI AE, KOIKE T, LOCKSHIN MD et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis & Rheumatism Vol.42 No.7: 1309-1311 (1999)
- LOCKSHIN MD, SAMMARITANO LR, SCHWARTZMAN S. Validation of the Sapporo criteria for antiphospholipid syndrome. Arthritis & Rheumatism Vol.43 No.2: 440-443 (2000)
- MIYAKIS S, LOCKSHIN MD, ATSUMI T, BRANCH DW, BREY RL, CERVERA R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J. Thromb and Haemost 4: 295-306 (2006)

Principio del ensayo:

Los kits emplean la técnica de inmunoensayo enzimático. Los pocillos de valoración se sensibilizan con β 2-glucoproteína I humana purificada por afinidad, cofactor de la cardiolipina. Una vez recubiertos con antígenos, los pocillos de microplaca se incuban con calibradores, controles y muestras de suero para permitir que el anticuerpo presente en la muestra ensayada se una a los pocillos recubiertos. Para identificar los autoanticuerpos que se han adherido a los pocillos recubiertos, en ellos se incuban IgA conjugada con la enzima peroxidasa de rábano (HRP). Al final de cada incubación, el material no unido se elimina mediante aspiración y lavado. A continuación se añade cromógeno y se mide el nivel de autoanticuerpos mediante un lector espectrofotométrico.

Contenido del kit:

- 12 x 8 tiras reactivas de microtitulación recubiertas, previamente unidas al marco soporte.
- 4 x calibradores listos para su uso, 3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml; 1000 μ l cada uno. **Nota: Prepare la curva de calibración para 4 + 1 calibradores con el diluyente de muestras (diluido previamente) siendo el « calibrador cero ».**
- 1 x suero control negativo; listo para su uso; 1000 μ l
- 1 x suero control positivo; listo para su uso; 1000 μ l
- 1 x diluyente de muestras (color ocre) ; concentración 5x, 20 ml
- 1 x trazador enzimático (color verde), 15ml
- 1 x tampón de lavado, concentración 20x, 50ml
- 1 x cromógeno (TMB), 15ml

- 1 x solución de paro, 10ml
- Hoja de datos: Rango de los valores registrados para los controles
- Información sobre el producto
- Esquema de pipeteado

Procedimiento:

Se recomienda el uso de pipetas de vías múltiples y de un dispositivo automático para el lavado de microplacas para obtener un tiempo exacto de incubación

Preparación:

- Espere hasta que el kit se encuentre a temperatura ambiente
- Abra la bolsa metalizada de la microplaca después de alcanzar la temperatura ambiente
- Diluya el diluyente de muestras **ocre** (1 porción) con agua destilada (4 porciones). Volumen total = 100ml
- Diluya el tampón de lavado (1 porción) con agua destilada (19 porciones). Volumen total = 1000 ml
- Las muestras de suero deben diluirse en una proporción 1 :101 antes del uso.
Distribuya 10µl de la muestra en 1ml de diluyente **ocre** de muestras diluido
- Los calibradores están listos para el uso.
- Los sueros de control negativo y positivo están listos para el uso.
- El trazador enzimático **verde** está listo para el uso
- El cromógeno (TMB) debe utilizarse protegido de la luz Después del uso consérvelo protegido de la luz.
- Las tiras que no se han utilizado deben guardarse lo antes posible herméticamente cerradas en la bolsa metalizada y conservarse a 2-8°C.
- **Manipule la solución de paro con cuidado ! Acido sulfúrico**

Procedimiento:

- Distribuya **100µl de las muestras diluidas**, de los **calibradores** no diluidos y de los **sueros de control** no diluidos en los pocillos utilizando la pipeta. Se recomienda la ejecución por duplicado y añadir un blanco (diluyente de muestras **ocre**, previamente diluido)
- Incube durante **30 minutos** a temperatura ambiente
- Lave la microplaca tres veces con al menos 300µl de lavado diluido para cada pocillo y lavado. Elimine los restos del tampón de los pocillos secándolos bien con papel absorbente después del último lavado. Atención: La precisión de los resultados puede disminuir si los pocillos no se lavan y aspiran por completo.
- Distribuya **100µl de trazador enzimático verde** en todos los pocillos.
- Incube durante **30 minutos** a temperatura ambiente
- Elimine el trazador enzimático de los pocillos y lave la placa como se describe antes.
- Distribuya **100µl de cromógeno** (TMB) en todos los pocillos
- Incube a temperatura ambiente durante **30 minutos** en un lugar apartado de la luz
- Distribuya **50µl de solución de paro** en todos los pocillos en el mismo orden como el cromógeno
- Mida la absorbancia a **450nm** en los 30 minutos siguientes a la conclusión del ensayo.

Evaluación del ensayo:

Los valores de absorbancia leídos para los puntos de calibración se representan en un gráfico semilogaritmico con respecto a las concentraciones standard (3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml). Para obtener la curva de calibración trace una línea de ajuste óptimo por los puntos (cuatro parámetros). Lea directamente de la curva de calibración la concentración de cada analito.

Los niveles de β2-glicoproteína 1-IgA inferiores a 4 SA U/ml se consideran negativos.

La interpretación de los resultados depende de las aplicaciones clínicas específicas del ensayo. Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos clínicos relevantes en función de la población objeto del estudio. Las muestras con niveles de anticuerpos dudosos deben analizarse otra vez. Si el resultado sigue siendo equívoco, debe indicarse como tal, tomar otra muestra para analizarla, a discreción del médico, o ambos.

El ensayo es válido cuando el suero de control positivo se encuentra en el rango definido en la hoja de datos y cuando el control negativo está bajo el valor límite.

Precauciones:

¡Solo para uso diagnóstico in vitro ! Los sueros estándar y de control son de origen humano. Todos los sueros se han analizado y se han determinado negativos para HBsAG, Hepatitis C y HIV. Sin embargo, todos los reactivos de origen humano deberían ser considerados potencialmente infecciosos y manipulados como tales. Deben ser observadas las normas para la manipulación de suero humano.

Advertencia: Algunos reactivos contienen azida sódica, el cual puede reaccionar con plomo o cobre formando azidas metálicas potencialmente explosivos. Elimine cuidadosamente los restos de reactivos con agua. Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Thimerosal (<0,1%). El cromógeno contiene 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) La solución de paro contiene 2,6% de ácido sulfúrico. Por consiguiente, deben tratarse todos los componentes como si fueran potencialmente peligrosos.

Imunoensaio enzimático para detecção de IgA anti-β2-glicoproteína 1

N.º produto 11024

Observações importantes:

- Antes de utilizar, leia com atenção as instruções para o fr-elisa.
- O kit deve ser conservado a 2-8 °C. Não congelar.
- Tenha atenção ao prazo de validade de cada um dos reagentes e não os utilize caso o prazo tenha expirado.
- Deixe o conteúdo do kit de teste aquecer até à temperatura ambiente!
- Abra sempre a bolsa de película metalizada com a placa de microtitulação depois de atingir a temperatura ambiente.
- O tampão de lavagem e o tampão de amostras são fornecidos numa forma mais concentrada do que as diluições de trabalho necessárias para o teste. Depois de diluir as soluções concentradas, tenha atenção aos seguintes prazos de validade: a duração do tampão de amostras e do tampão de lavagem diluídos (conservados a 2-8 °C) é de 2 semanas.
- Não misture reagentes de diferentes lotes de kits de teste de fr-elisa.

Significado clínico:

Estão a surgir novas evidências de que a presença de anticorpos anti-fosfolípidos poderá não ser a única causa envolvida em doenças trombóticas auto-imunes. Foi recentemente demonstrado que a ligação de anticorpos anti-cardiolipina dependia da presença do co-factor β2-glicoproteína 1 (β2-GP 1), também conhecida por apolipoproteína H. A β2-glicoproteína 1 é uma proteína com 326 aminoácidos e um peso molecular aparente de 50 kD. Alguns estudos sugerem que a β2-glicoproteína 1 é o verdadeiro alvo antigénico para os anticorpos anti-fosfolípidos, enquanto outros postulam a formação de um complexo de cardiolipina/β2-glicoproteína 1 como alvo antigénico. Apesar disso, a ligação da β2-glicoproteína 1 a lípidos aniónicos ou superfícies é geralmente considerada essencial para diferenciar entre anticorpos anti-cardiolipina associados a doenças auto-imunes e anticorpos anti-cardiolipina associados a doenças infecciosas como, por exemplo, a tuberculose, lepra, doença de Lyme, SIDA, mononucleose, hepatite, etc. A β2-glicoproteína 1 sem fosfolípidos é mais específica para detectar potencial trombose venosa ou arterial. Esta especificidade foi demonstrada por uma estreita relação entre anticoagulante lúpico e anticorpos anti-β2-glicoproteína 1. Neste estudo, 88% dos soros positivos para anticorpos anti-β2-glicoproteína 1 também demonstrou actividade anticoagulante lúpica, enquanto apenas 18% dos soros positivos para actividade anticoagulante lúpica foi negativa para anticorpos anti-β2-glicoproteína 1. O teste de auto-anticorpos anti-β2-glicoproteína 1 é, por isso, mais específico e a sua utilização é útil além dos tradicionais testes de anti-cardiolipina e anticoagulante lúpico para avaliação do risco de trombose numa população em risco.

- MC NEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN and KRILIS SA: 1990 *Proc Natl Acad Sci, USA* 87: 4120-4124
- GALLI M, COMFUTIUS P, MAASSEN C, HEMKER HC, DE BAETS MH, VAN BREDA-VRIESMAN PJC, BARBUI T, ZWAAL RFA and BEVERS EM: 1990 *Lancet* 335: 1544-1547
- MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K and KOIKE K: 1990 *Lancet* 336: 177-178
- ERICSON E, NAJMEY S, KEIL L, EL-KADI H and DE BARI: 1996 *Clinical Chemistry*, 42: 1-2
- VIARD JP, AMOURA Z and BACH JF: 1992 *Am J Med*. 93: 181-186

Princípio do teste:

Os kits são imunoensaios enzimáticos de fase sólida. Os poços de microplacas pré-revestidos com antigénio são incubados com calibradores, controlos e amostras de soro. Durante a incubação, os anticorpos presentes na amostra de teste ligam-se aos poços revestidos. Nestes, é incubada IgA anti-humana conjugada com peroxidase de rábano para reconhecer os auto-anticorpos ligados aos poços revestidos. No fim de cada incubação, o material não ligado é removido por aspiração e lavagem. Em seguida, é adicionado cromogénio e os auto-anticorpos são medidos com um leitor de placas espectrofotométrico.

Conteúdo do kit de teste:

- 12 x 8 tiras de teste de microtitulação revestidas, pré-fixas na armação
- 4 x calibradores prontos a usar: 3,125 SA U/ml, 12,5 SA U/ml, 50 SA U/ml, 100 SA U/ml; 1000 µl cada. **Nota: A curva de calibração tem de ser preparada para 4 + 1 calibradores, pois o tampão de diluição de amostras (pré-diluído) é usado como “calibrador zero”.**
- 1 x soro de controlo negativo pronto a usar; 1000 µl
- 1 x soro de controlo positivo pronto a usar; 1000 µl
- 1 x tampão de diluição de amostras (cor **ocre**); concentração de 5 vezes; 20 ml
- 1 x solução de conjugado enzimático (cor **verde**); 15 ml
- 1 x tampão de lavagem; concentração de 20 vezes; 50 ml
- 1 x solução de substrato (TMB); 15 ml
- 1 x solução de paragem, 10 ml
- folha de dados: intervalo de medição dos soros de controlo do teste
- informações sobre o produto
- esquema de pipetagem

Desempenho do teste:

Recomenda-se a utilização de pipetas multicanal e de um dispositivo de lavagem automático para se conseguir tempos de incubação altamente sincronizados e um desempenho elevado de todos os calibradores e amostras usados no ensaio.

Passos preliminares:

- Utilize o kit de teste à temperatura ambiente.
- Abra sempre a bolsa de película metalizada depois de atingir a temperatura ambiente.
- Dilua o tampão de diluição de amostras **ocre** (1 parte) em água destilada (4 partes). Volume total = 100 ml.
- Dilua o tampão de lavagem (1 parte) em água destilada (19 partes). Volume total = 1000 ml.
- Os soros dos doentes têm de ser diluídos a 1:101 antes da utilização. Distribua 10 µl de amostra em 1ml de tampão de amostras **ocre** diluído.
- Os calibradores estão prontos a ser usados.
- Os soros de controlo positivo e negativo estão prontos a ser usados.
- A solução de conjugado enzimático **verde** está pronta a ser usada.
- O cromogéneo (TMB) tem de ser usado sem qualquer influência da luz. Após a utilização, tem de ser guardado ao abrigo da luz.
- As tiras de teste não usadas devem ser prontamente fechadas na bolsa de película metalizada com dessecante e conservadas a 2-8 °C.

Manuseie a solução de paragem com cuidado, pois contém ácido sulfúrico!

Procedimento de teste:

- Pipete **100 µl do soro diluído, calibradores** não diluídos e soros de **controlo** não diluídos para os poços. Recomendase a realização de determinações repetidas e de "brancos" (tampão de diluição de amostras **ocre**, pré-diluído)
- **Incube 30 min** à temperatura ambiente.
- Enxágue a placa de microtitulação três vezes usando pelo menos 300 µl de tampão de lavagem para cada poço e cada passo de lavagem. Após a última lavagem, remova os vestígios do tampão restante para fora dos poços absorvendo bem com um papel absorvente. Atenção: a lavagem e a aspiração incompletas dos poços podem conduzir à diminuição da precisão do ensaio.
- Adicione **100 µl de solução de conjugado enzimático verde** a cada poço.
- **Incube 30 min** à temperatura ambiente.
- Elimine os vestígios de solução enzimática dos poços e lave a placa conforme anteriormente indicado.
- Adicione **100 µl de cromogéneo (TMB)** a cada poço.
- **Incube 30 min** à temperatura ambiente, totalmente protegido da luz.
- Adicione **50 µl de solução de paragem** na mesma ordem que o cromogéneo.
- Determine a extinção óptica a **450 nm** no prazo de 30 min após a conclusão do ensaio.

Avaliação do teste:

As extinções determinadas para os pontos de calibração são marcadas semilogaritmicamente *versus* as concentrações das soluções padrão (3,125 SA U/ml, 12,5 SA U/ml, 50 SA U/ml, 100 SA U/ml). A curva de calibração é, por conseguinte, obtida desenhando uma linha de melhor ajuste (quatro parâmetros) através dos pontos. Leia a concentração de cada analito directamente a partir da curva de calibração.

Valores de IgG anti-β2-glicoproteína 1 inferiores a 4 SA U/ml são considerados negativos.

Cut-off = 4 SA U/ml

A interpretação dos resultados depende da aplicação clínica específica do teste: cada laboratório deve estabelecer os seus intervalos clinicamente relevantes para a população que está a ser considerada. Uma amostra com níveis de anticorpos ambíguos deve ser novamente testada; caso os resultados continuem a ser ambíguos, o resultado deve ser apresentado como ambíguo e/ou deve ser colhida uma outra amostra para teste, segundo o critério médico.

O teste pode ser avaliado se o soro de controlo positivo se situar no intervalo dado pela folha de dados e se ao mesmo tempo o controlo negativo for inferior ao valor de "Cut-Off" (limiar).

Precauções:

Utilização exclusiva em diagnóstico *in vitro*! Os padrões e os soros de controlo são de origem humana. Os soros foram testados para o HBsAg, vírus da hepatite C e VIH, tendo obtido resultados negativos. Apesar disso, todos os reagentes devem ser considerados como potencialmente infecciosos e, conseqüentemente, manuseados com o devido cuidado. As regras para manuseamento de soros humanos têm de ser respeitadas.

Advertência: alguns reagentes contêm azida de sódio. A azida de sódio pode formar azidas metálicas explosivas com o chumbo e cobre. Os restos de reagentes devem ser cuidadosamente removidos com água. Alguns reagentes contêm pequenas quantidades de timerosal (< 0,1% p/v). O substrato contém 3,3', 5,5' tetrametilbenzidina. A solução de paragem contém ácido sulfúrico a 2,6%. Por estes motivos, manuseie todos os componentes como se fossem potencialmente perigosos.

Test Immunologique Enzymatique pour la Détection de β 2-Glycoprotéine 1-IgA

N° Produit 11024

Remarques importantes:

- Avant utilisation, lire attentivement les instructions pour le fr-elisa.
- Le kit doit être conservé entre 2-8°C. Ne pas congeler.
- Veuillez contrôler la date de péremption de chaque réactif et ne pas les utiliser si elle est dépassée.
- Porter le contenu du kit à température ambiante!
- Toujours ouvrir l'emballage de la plaque de micro-titration après avoir atteint la température ambiante.
- Le tampon de lavage et le tampon d'échantillon sont présentés sous une forme plus concentrée par rapport aux dilutions de travail requises dans le test. Après dilution des solutions concentrées, veuillez tenir compte des dates de péremption suivantes: le tampon d'échantillon ainsi que le tampon de lavage dilués doivent être conservés entre 2° et 8°C pendant 2 semaines maximum.
- Ne pas mélanger les réactifs de différents lots de kits de test fr-elisa.

Généralités:

De nouvelles preuves sont apparues que la présence d'anticorps anti-phospholipides n'est peut-être pas la seule cause impliquée dans les désordres thrombotiques auto-immunitaires. Il a été récemment démontré que la liaison des anticorps anti-cardiolipine dépend de la présence du cofacteur β 2-glycoprotéine 1 (β 2-GP 1 aussi connu comme apolipoprotéine H). La β 2-glycoprotéine 1 est une protéine de 326 acides aminés avec un poids moléculaire apparent de 50 kD. Certaines études suggèrent que la β 2-glycoprotéine 1 est le véritable antigène cible pour les anticorps anti-phospholipides, tandis que d'autres postulent que c'est la formation d'un complexe cardiolipine / β 2-glycoprotéine 1 qui est l'antigène cible. Toutefois, la liaison de la β 2-glycoprotéine 1 aux lipides ou aux surfaces anioniques est généralement considérée comme essentielle pour différencier les anticorps anti-cardiolipine associés aux maladies auto-immunitaires et les anticorps anti-cardiolipine associés aux maladies infectieuses telles que la tuberculose, la lèpre, la maladie de Lyme, le SIDA, la mononucléose, l'hépatite, etc. La β 2-glycoprotéine1 sans phospholipides est plus spécifique pour détecter une thrombose veineuse ou artérielle potentielle. Cette spécificité a été démontrée par une corrélation étroite entre le lupus anticoagulant et les anticorps anti- β 2-glycoprotéine 1. Dans cette étude, 88% des sérums positifs pour les anticorps anti- β 2-glycoprotéine 1 montraient aussi une activité lupus anticoagulant, tandis que 18% seulement des sérums positifs pour l'activité lupus anticoagulant étaient négatifs pour les anticorps anti- β 2-glycoprotéine 1. Le test des auto-anticorps β 2-glycoprotéine 1 est donc plus spécifique et est pratique à utiliser en supplément des tests anti-cardiolipine et lupus anticoagulant traditionnels pour déterminer le risque de thrombose dans une population à risque.

- MC NEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN and KRILIS SA: 1990 *Proc Natl Acad Sci, USA* 87: 4120- 4124
- GALLI M, COMFUTIUS P, MAASSEN C, HEMKER HC, DE BAETS MH, VAN BREDA-VRIESMAN PJC, BARBUI T, ZWAAL RFA and BEVERS EM: 1990 *Lancet* 335: 1544-1547
- MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K and KOIKE K: 1990 *Lancet* 336: 177-178
- ERICSON E, NAJMEY S, KEIL L, EL-KADI H and DE BARI: 1996 *Clinical Chemistry*, 42: 1-2
- VIARD JP, AMOURA Z and BACH JF: 1992 *Am J Med*.93: 181-186

Principe de la Méthode:

Les kits sont des tests immunologiques enzymatiques en phase solide. Les puits de la micro- plaque recouverts d'antigènes sont incubés avec les étalons, les contrôles et les échantillons de sérum des patients. Durant l'incubation, les anticorps présents dans l'échantillon se lient aux puits recouverts. Le conjugué (anti-IgA humaines couplés à la peroxydase de raifort) est incubé dans les puits pour reconnaître les auto-anticorps liés aux puits recouverts. A la fin de chaque incubation, le matériel non lié est enlevé par aspiration et lavage. Un chromogène est ajouté et les auto-anticorps sont mesurés en utilisant un lecteur de plaque spectrophotométrique.

Contenu du Kit de Test:

- 12 x 8 bandelettes de micro-titration recouvertes, préfixées sur le support
- 4 x étalons, prêts à l'emploi 3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml; 1000 μ l chacun. **Remarque: La courbe d'étalonnage doit être préparée pour 4 + 1 étalons; le tampon de dilution de l'échantillon (prédilué) est utilisé comme "étalon zéro".**
- 1 x sérum contrôle négatif; prêt à l'emploi; 1000 μ l
- 1 x sérum contrôle positif; prêt à l'emploi; 1000 μ l
- 1 x tampon de dilution de l'échantillon (couleur **ocre**); concentré 5 fois; 20ml
- 1 x solution de conjugué (couleur **verte**); 15ml
- 1 x tampon de lavage; concentré 20 fois; 50ml
- 1 x solution substrat (TMB); 15ml
- 1 x solution d'arrêt, 10ml
- feuillets de données: gamme de mesure des sérums de contrôle du test
- information produit
- système de pipetage

Réalisation du test:

Nous recommandons l'utilisation de pipettes multicanaux et d'un bac de lavage automatique pour obtenir des durées d'incubation très synchronisées et un haut niveau de performance pour tous les étalons et échantillons utilisés dans le test.

Étapes Préliminaires:

- porter tous les réactifs à température ambiante
- toujours ouvrir l'emballage après avoir atteint la température ambiante
- diluer le tampon de dilution de l'échantillon (couleur **ocre**) (1 part) avec de l'eau distillée (4 parts). Volume total = 100ml
- diluer le tampon de lavage (1part) avec de l'eau distillée (19 parts). Volume total= 1000 ml
- les sérums patients doivent être dilués au 1:101 avant utilisation. Distribuer 10µl de l'échantillon dans 1 ml de tampon d'échantillon dilué (couleur **ocre**).
- les étalons sont prêts à l'emploi
- les sérums de contrôle positif et négatif sont prêts à l'emploi
- la solution de conjugué (couleur **verte**) est prête à l'emploi
- le chromogène (TMB) doit être utilisé sans aucune influence de la lumière. Après utilisation, il doit être conservé à l'abri de la lumière
- les bandelettes non utilisées doivent être rapidement replacées dans l'emballage avec le dessiccateur, refermer et conserver entre 2 et 8°C.

Manipuler la solution d'arrêt avec prudence! Acide Sulfurique!

Mode Opérateur:

- **100µl d'échantillons de patients dilués, d'étalons non dilués et de sérums de contrôle non dilués** sont pipetés dans les puits. Il est recommandé de réaliser plusieurs déterminations et "blancos" (tampon de dilution de l'échantillon couleur **ocre**, prédilué)
- **incuber 30 minutes** à température ambiante
- rincer la plaque de micro-titration trois fois en utilisant au moins 300µl de tampon de lavage pour chaque puit et chaque étape de lavage. Enlever les traces du tampon restant hors des puits en passant soigneusement un papier absorbant après le dernier lavage. Attention: un lavage et une aspiration incomplets des puits peuvent entraîner une diminution de précision.
- ajouter **100µl de conjugué** (solution couleur **verte**) à chaque puit
- **incuber 30 minutes** à température ambiante
- éliminer des puits le conjugué non lié et laver la plaque comme décrit ci-dessus.
- ajouter **100µl de chromogène** (TMB) à chaque puit
- **incuber 30 minutes** à l'abri complet de la lumière et à température ambiante
- ajouter **50µl de solution d'arrêt** dans le même ordre que le chromogène
- déterminer l'extinction optique à **450nm** dans les 30 min après l'arrêt de la réaction

Evaluation du Test:

Les absorbances déterminées pour les points d'étalonnage sont indiquées par rapport aux concentrations des solutions standard de façon semi-logarithmique (3.125 SA U/ml; 12.5 SA U/ml; 50 SA U/ml; 100 SA U/ml). Une courbe d'étalonnage est ensuite obtenue en dessinant la ligne d'ajustement (quatre paramètres) passant sur les points. Lire la concentration de chaque composé à analyser directement à partir de la courbe d'étalonnage.

Les valeurs de β 2-Glycoprotéine 1-IgA inférieures à 4 SA U/ml sont considérées négatives.

Cut-off = 4 SA U/ml

L'interprétation des résultats dépend de l'application clinique spécifique du test: chaque laboratoire devrait établir ces propres gammes de signification clinique pour la population prise en considération. Un échantillon avec des niveaux d'anticorps douteux devrait être testé à nouveau; s'il reste douteux, le résultat devrait être reporté comme douteux et/ou un échantillon supplémentaire devrait être testé selon l'avis du médecin.

Le test peut être évalué si le résultat du contrôle positif est compris dans une gamme indiquée sur le feuillet de données et si en même temps, le contrôle négatif se trouve aussi en dessous de la valeur "Cut-Off".

Précautions:

Pour diagnostic in vitro uniquement! Les standards et les sérums de contrôle sont d'origine humaine. Les sérums ont été testés et sont négatifs pour l'HBsAg, l'Hépatite C et le VIH. Toutefois, tous les réactifs doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent donc être manipulés avec les précautions nécessaires. Les règles de manipulation des sérums humains doivent être respectées.

Avertissement: Certains réactifs contiennent de l'Azide de Sodium. L'Azide de Sodium peut former des Azotures Métalliques hautement explosifs avec le plomb et le cuivre présents notamment dans les canalisations. Afin d'éviter la formation et l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, rincer l'évier à grande eau lors de l'élimination des restes de réactifs. Certains réactifs contiennent de petites quantités de Thimérosol (<0.1% p/v). Le substrat contient du 3,3', 5,5' de Tétraméthylbenzidine. La solution d'arrêt contient 2,6% d'Acide Sulfurique. Manipuler donc tous ces composants comme des agents potentiellement dangereux.

Ενζυμικός ανοσοπροσδιορισμός για την ανίχνευση IgA έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης 1

Αρ. Προϊόντος 11024

Σημαντικές σημειώσεις:

- Πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες για το fr-elisa.
- Το kit θα πρέπει να φυλάσσεται σε 2-8°C. Μην καταψύχετε.
- Παρακαλούμε σημειώστε την ημερομηνία λήξης όλων των μεμονωμένων αντιδραστηρίων και μη τα χρησιμοποιείτε αν έχουν λήξει.
- Αφήστε τα περιεχόμενα του kit δοκιμασίας να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου!
- Να ανοίγετε πάντα τη θήκη από λεπτό φύλλο της πλάκας μικροτιτλοποίησης αφού έρθει σε θερμοκρασία δωματίου.
- Το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης και το ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος παρουσιάζονται σε μορφή υψηλότερης συγκέντρωσης σε σχέση με τα διαλύματα εργασίας που απαιτούνται στη δοκιμασία. Μετά την αραιώση των συμπυκνωμένων διαλυμάτων, παρακαλούμε τηρήστε τις παρακάτω ημερομηνίες “χρήσης έως”. Ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος καθώς και ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης, αραιωμένο (φυλάσσεται σε 2° - 8°C): 2 εβδομάδες.
- Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες kit δοκιμασίας fr-elisa.

Κλινική σημασία:

Υπάρχουν νέες ενδείξεις ότι η παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων ενδέχεται να μην είναι η μόνη αιτία που ενέχεται σε αυτοάνοσες θρομβωτικές διαταραχές. Η δέσμευση των αντισωμάτων έναντι της καρδιολιπίνης αποδείχθηκε πρόσφατα ότι εξαρτάται από την παρουσία του συμπαράγοντα (β2-γλυκοπρωτεΐνη 1 (β2-GP 1), γνωστού επίσης ως απολιποπρωτεΐνη Η. Η β2-γλυκοπρωτεΐνη 1 είναι μία πρωτεΐνη 326 αμινοξέων με φαινομενικό μοριακό βάρος 50 kD. Μερικές μελέτες υποδηλώνουν ότι η β2-γλυκοπρωτεΐνη 1 είναι ο πραγματικός αντιγονικός στόχος για τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, ενώ άλλες υποδεικνύουν το σχηματισμό ενός συμπλόκου καρδιολιπίνης / β2-γλυκοπρωτεΐνης 1 ως αντιγονικό στόχο. Ωστόσο, η δέσμευση της β2-γλυκοπρωτεΐνης 1 σε ανιονικά λιπίδια ή επιφάνειες θεωρείται γενικά βασική για τη διαφοροποίηση μεταξύ αντισωμάτων έναντι της καρδιολιπίνης που σχετίζονται με αυτοάνοσες νόσους και αντισωμάτων έναντι της καρδιολιπίνης που σχετίζονται με μολυσματικές νόσους όπως φυματίωση, λέπτρα, νόσος Lyme, AIDS, μονοπυρήνωση, ηπατίτιδα κ.λπ. Η β2-γλυκοπρωτεΐνη 1 χωρίς φωσφολιπίδια είναι περισσότερο ειδική για την ανίχνευση πιθανής φλεβικής ή αρτηριακής θρόμβωσης. Αυτή η ειδικότητα έχει καταδειχθεί από τη στενή σχέση μεταξύ αντιπηκτικού του λύκου και αντισωμάτων έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης 1. Σε αυτήν τη μελέτη, το 88% των ορών που ήταν θετικοί για αντισώματα έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης 1 έδειξαν επίσης δραστηριότητα του αντιπηκτικού του λύκου ενώ μόνο το 18% των ορών που ήταν θετικοί για δραστηριότητα του αντιπηκτικού του λύκου ήταν αρνητικοί για αντισώματα έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης 1. Η δοκιμασία αυτοαντισωμάτων έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης 1 είναι επομένως περισσότερο ειδική και χρήσιμη για χρήση ως προσθήκη στις παραδοσιακές δοκιμασίες αντι-καρδιολιπίνης και αντιπηκτικού του λύκου για την εκτίμηση του κινδύνου θρόμβωσης σε έναν πληθυσμό κινδύνου.

- MC NEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN and KRILIS SA: 1990 Proc Natl Acad Sci, USA 87: 4120- 4124
- GALLI M, COMFUTIUS P, MAASSEN C, HEMKER HC, DE BAETS MH, VAN BREDA-VRIESMAN PJC, BARBUI T, ZWAAL RFA and BEVERS EM: 1990 Lancet 335: 1544-1547
- MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K and KOIKE K: 1990 Lancet 336: 177-178
- ERICSON E, NAJMEY S, KEIL L, EL-KADI H and DE BARI: 1996 Clinical Chemistry, 42: 1-2
- VIARD JP, AMOURA Z and BACH JF: 1992 Am J Med.93: 181-186

Αρχή της δοκιμασίας:

Τα kit είναι ενζυμικοί προσδιορισμοί στερεάς φάσης. Οι προεπικαλυμμένες με αντιγόνο υποδοχές μικροπιακών επωάζονται με βαθμονομητές, μάρτυρες και δείγματα ορού. Κατά την επώαση, τα αντισώματα που είναι παρόντα στο δείγμα δοκιμασίας δεσμεύονται στις επικαλυμμένες υποδοχές. Αντι-ανθρώπινη IgA συζευγμένη με υπεροξειδάση χρένου επωάζεται στις υποδοχές για να αναγνωρίσει τα αυτοαντισώματα που δεσμεύονται στις επικαλυμμένες υποδοχές. Στο τέλος κάθε επώασης το μη δεσμευμένο υλικό αφαιρείται με αναρρόφηση και πλύση. Προστίθεται χρωμογόνο και τα αυτοαντισώματα μετριοούνται με χρήση φασματοφωτομετρικής συσκευής ανάγνωσης πιακών.

Περιεχόμενα του kit δοκιμασίας:

- 12 x 8 επικαλυμμένες δοκιμαστικές ταινίες μικροτιτλοποίησης, στερεωμένες εκ των προτέρων σε πλαίσιο.
- 4 x βαθμονομητές, έτοιμοι για χρήση 3,125 SA U/ml, 12,5 SA U/ml, 50 SA U/ml, 100 SA U/ml, 1000μl έκαστος. Σημείωση: Η καμπύλη βαθμονόμησης πρέπει να προετοιμαστεί για 4 + 1 βαθμονομητές. Το (προαραιωμένο) ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως δείγματος χρησιμοποιείται ως “μηδενικός βαθμονομητής”.
- 1 x αρνητικός ορός μάρτυρας, έτοιμος για χρήση 1000μl
- 1 x θετικός ορός μάρτυρας, έτοιμος για χρήση, 1000 μl
- 1 x ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως δείγματος (χρώματος ώχρας), 5-πλάσια συγκέντρωση, 20ml
- 1 x ενζυμικό διάλυμα συζυγούς (πράσινου χρώματος), 15ml
- 1 x ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης, 20-πλάσια συγκέντρωση, 50ml
- 1 x διάλυμα υποστρώματος (TMB), 15ml
- 1 x διάλυμα τερματισμού, 10ml
- Φύλλο δεδομένων: εύρος μέτρησης ορών ελέγχου της δοκιμασίας
- Πληροφορίες προϊόντος
- Σχήμα μεταφοράς με πιπέτα

Απόδοση δοκιμασίας:

Συνιστούμε τη χρήση πιπέτας πολλαπλών καναλιών και αυτόματης συσκευής πλύσης για την επίτευξη ιδιαίτερα σύγχρονων χρόνων επώασης και υψηλής απόδοσης για όλους τους βαθμονομητές και τα δείγματα που χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό.

Προκαταρκτικά βήματα:

- Χειριστείτε το κιτ δοκιμασίας σε θερμοκρασία δωματίου.
- Να ανοίγετε πάντα τη θήκη από λεπτό φύλλο αφού έρθει σε θερμοκρασία δωματίου.
- Αραιώστε το ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως δείγματος χρώματος ώχρας (1 μέρος) με απεσταγμένο νερό (4 μέρη). Συνολικός όγκος = 100ml
- Αραιώστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (1 μέρος) με απεσταγμένο νερό (19 μέρη). Συνολικός όγκος = 1.000 ml
- Οι οροί ασθενών πρέπει να αραιώνονται 1:101 πριν τη χρήση. Διανείμετε 10 μl δείγματος σε 1 ml αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος χρώματος ώχρας.
- Οι βαθμονομητές είναι έτοιμοι για χρήση.
- Οι θετικοί και αρνητικοί οροί μάρτυρες είναι έτοιμοι για χρήση.
- Το πράσινο ενζυμικό διάλυμα συζυγούς είναι έτοιμο για χρήση.
- Το χρωμογόνο (TMB) πρέπει να χρησιμοποιηθεί χωρίς καμία επίδραση φωτός. Μετά τη χρήση πρέπει να φυλάσσεται προστατευμένο από το φως.
- Οι μη χρησιμοποιημένες ταινίες θα πρέπει να επανασφραγίζονται αμέσως στη θήκη από λεπτό φύλλο με αποξηραντικό και να φυλάσσονται σε 2-8°C.

Να χειρίζεστε το διάλυμα τερματισμού προσεκτικά! Θεϊκό οξύ

Διαδικασία δοκιμασίας

- 100ml από την αραιώση ορού, τους μη αραιωμένους βαθμονομητές και τους μη αραιωμένους ορούς ελέγχου μεταφέρονται με πιπέτα στις υποδοχές. Συνιστάται να εκτελέσετε επανειλημμένους προσδιορισμούς και "τυφλά" (ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως δείγματος, χρώματος ώχρας, προαραιωμένο)
- Επιάστε για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- Εκπλύνετε τις πλάκες μικροτιτλοποίησης τρεις φορές χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 300 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης για κάθε υποδοχή και κάθε βήμα πλύσης. Αφαιρέστε τα ίχνη του υπολειπόμενου ρυθμιστικού διαλύματος από τις υποδοχές στυπώνοντας καλά σε απορροφητικό χαρτί μετά την τελευταία πλύση. Προσοχή: Ατελής πλύση και αναρρόφηση των υποδοχών μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της ακρίβειας.
- Προσθέστε 100ml πράσινου ενζυμικού διαλύματος συζυγούς σε κάθε υποδοχή.
- Επιάστε για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- Απορρίψτε τα ίχνη του ενζύμου από τις υποδοχές και την πλάκα πλύσης όπως περιγράφηκε παραπάνω.
- Προσθέστε 100 μL χρωμογόνου (TMB) σε κάθε υποδοχή.
- Επιάστε για 30 min με πλήρη προστασία από το φως σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προσθέστε 50ml διαλύματος τερματισμού με την ίδια σειρά όπως με το χρωμογόνο.
- Προσδιορίστε την οπτική απόσβεση στα 450nm εντός 30 min μετά τον τερματισμό της αντίδρασης.

Αξιολόγηση της δοκιμασίας:

Οι αποσβέσεις που προσδιορίζονται για τα σημεία βαθμονόμησης σημειώνονται έναντι των συγκεντρώσεων των πρότυπων διαλυμάτων ημιλογαριθμικά (3,125 SA U/ml, 12,5 SA U/ml, 50 SA U/ml, 100 SA U/ml). Λαμβάνεται έτσι μία καμπύλη βαθμονόμησης σχεδιάζοντας τη γραμμή που ταιριάζει καλύτερα (τέσσερις παράμετροι) μέσω των σημείων. Απευθείας από την καμπύλη βαθμονόμησης, διαβάστε τη συγκέντρωση κάθε αναλύτη.

Τιμές IgA έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης 1 μικρότερες των 4 SA U/ml κρίνονται ως αρνητικές.

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ειδική κλινική εφαρμογή της δοκιμασίας. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθορίσει τα δικά του κλινικά σχετικά εύρη για τον πληθυσμό που λαμβάνεται υπόψη. Ένα δείγμα με αμφίβολα επίπεδα αντισωμάτων θα πρέπει να υποβάλλεται ξανά σε δοκιμασία. Αν παραμένει αμφίβολο, το αποτέλεσμα θα πρέπει να αναφερθεί ως αμφίβολο ή και θα πρέπει να ληφθεί πρόσθετο δείγμα για εξέταση σύμφωνα με την κρίση του ιατρού.

Η δοκιμασία μπορεί να αξιολογηθεί αν ο θετικός ορός μάρτυρας προσδιορίζεται στο εύρος που δίνεται από το φύλλο δεδομένων και αν ταυτόχρονα ο αρνητικός μάρτυρας βρίσκεται κάτω από την τιμή αποκοπής ("Cut-Off").

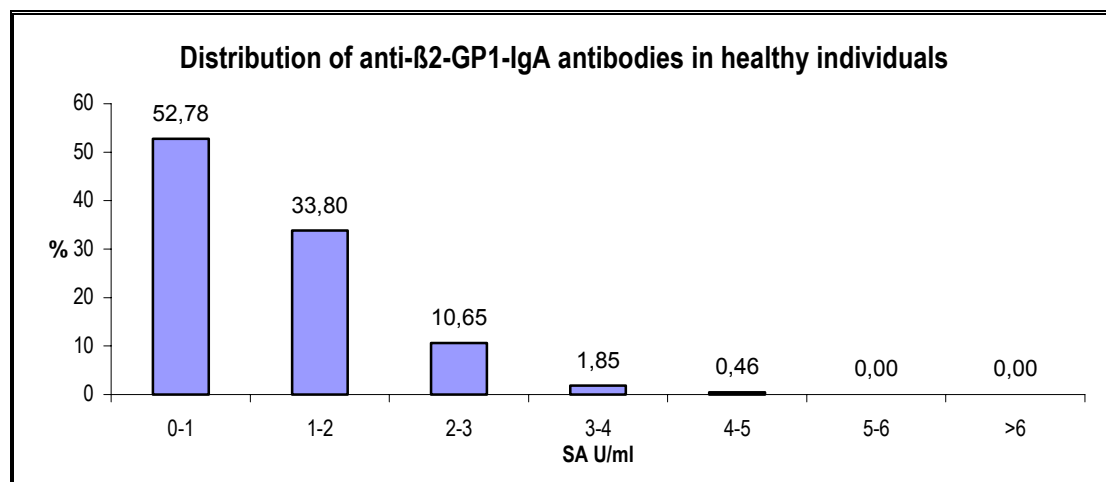
Προφυλάξεις:

Μόνο για διαγνωστική χρήση in-vitro! Οι πρότυποι οροί και οι οροί ελέγχου είναι ανθρώπινης προέλευσης. Οι οροί έχουν εξεταστεί και έχουν βρεθεί αρνητικοί για HBsAg, τον ιό της Ηπατίτιδας C και HIV. Ωστόσο, όλα τα αντιδραστήρια θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά μολυσματικά και ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται με την απαιτούμενη προσοχή. Θα πρέπει να τηρούνται οι κανονισμοί για τον χειρισμό ανθρώπινων ορών.

Προσοχή: Μερικά αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με χαλκό και υδραυλικές σωληνώσεις και να σχηματίσει εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Τα υπολείμματα αντιδραστηρίων θα πρέπει να αφαιρούνται προσεκτικά με νερό. Μερικά αντιδραστήρια περιέχουν μικρές ποσότητες Thimerosal (<0,1% w/v (βάρους κατ'όγκο)). Το υπόστρωμα περιέχει 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidin. Το διάλυμα τερματισμού περιέχει 2,6% θεϊκό οξύ. Για το λόγο αυτό, χειριστείτε όλα τα μέρη ως δυνητικά επικίνδυνα.

Technical Data: β 2-Glycoprotein 1-IgA 11024

1. Distribution of anti- β 2-Glycoprotein-IgA antibodies in healthy individuals



Specificity %	number	SA U/ml	Recommended Cut-off
$\geq 95\%$	210	<3	
$\geq 99\%$	214	<4	4 SA U/ml

2. Precision

	Repeatability (n=24)			Reproducibility (n=72)			
	1	2	3	1	2	3	
Mean	33.93	19.46	8.57	Mean	32.89	18.95	8.58
S.D.	1.24	0.63	0.41	S.D.	2.51	1.10	0.67
C.V.	3.65	3.25	4.81	C.V.	7.61	5.83	7.80

3. Dilution

Dilution			
	Expected SA U/ml	Measured SA U/ml	Recovery %
1 : 1		37.66	
1 : 2	18.8	18.4	97.9
1 : 4	9.4	9.55	101.6
1 : 8	4.7	4.78	101.7

Explanation of symbols / Significato dei simboli / Explication des symboles / Bedeutung der Symbole/ Explicación de los símbolos / Explicação dos símbolos / Επεξήγηση των συμβόλων

	For XX tests / Per XX dosaggi / Pour XX dosages / Für XX Bestimmungen / Para XX ensayos / Para XX testes / Περιεχόμενο επαρκές για XX εξετάσεις.
	Consult instructions for use / Leggere le istruzioni per l'uso / Lire la notice d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las instrucciones de uso / Consulte as instruções de utilização / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης.
	Use by / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Verwendbar bis / Use antes de / Utilizar em / Ημερομηνία λήξης.
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Temperaturgrenzen / Límites de temperatura / Límites de temperatura / Περιορισμοί θερμοκρασίας.
	Manufacturer / Fabbrikante / Fabricant / Hersteller / Fabricante / Κατασκευαστής.
IVD	In vitro diagnostic / Diagnostico in vitro / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnóstico in vitro / In Vitro .ιαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν.
LOT	Batch code / Codice del lotto / Code du lot / Chargenbezeichnung / Código de lote / Código do lote / Αριθμός Παρτίδας.
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Bestellnummer / Número de catálogo / Αριθμός καταλόγου.
BUF WASH 20x	Wash buffer / Tampone di lavaggio / Tampon de lavage / Waschpuffer / Tampon de lavado / Tampão de lavagem / Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης.
CAL	Calibrator / Calibratore / Etalon / Kalibrator / Calibrador / Μέσο βαθμονόμησης.
ENZ CONJ	Enzyme tracer / Tracciante enzimatico / Traceur enzymatique / Enzymkonjugat / Trazador enzimático / Conjugado enzimático / Ενζυματικός ιχνηθέτης.
CONT	Kit contents / Contenido del kit / Contenu de la trousse / Inhalt des Kits / Contenido del kit / Conteúdo do dispositivo / Περιεχόμενα συσκευασίας.
CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Negatives Kontrollserum / Control negativo / Controllo negativo / Αρνητικό πρότυπο ελέγχου.
CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Positives Kontrollserum / Control positivo / Controllo positivo / Θετικό πρότυπο ελέγχου.
DIL SPE 5x	Specimen diluent / Diluente campioni / Diluant pour échantillons / Probenpuffer / Diluyente de muestras / Diluente das amostras / .ιαλύτης δειγμάτων.
SOLN STOP	Stop solution / Soluzione di stop / Solution d'arrêt / Stopplösung / Solución de paro / Solução de paragem / Ανασχετικό διάλυμα.
SORB	Coated strips (solid phase) / Strip sensibilizzate (fase solida) / Barrettes revêtues (phase solide) / Beschichtete Streifen (feste Phase) / Tiras recubiertas (fase sólida) / Tiras sensibilizadas (fase sólida) / Επικαλυμμένες λωρίδες [strip] (στερεά φάση).
SUBS TMB	Chromogen (Tetramethylbenzidine) & Substrate / Cromogeno (Tetrametilbenzidina) & Substrato / Cromogène (Tétraméthylbenzidine) & Substrat / Chromogen (Tetramethylbenzidin) & Substrat / Cromógeno (Tetrametilbencidina) & Sustrato / Cromogénio (Tetrametilbenzidina) & Substrato/ Χρωμογόνο (Τετραμεθυλβενζιδίνη) & Υπόστρωμα.



Dr•Fenning
BioMed GmbH

fr-elisa β 2-Glycoprotein 1-IgA, Sept 2009

CE Dr. Fenning BioMed GmbH
Ottenstr.6a, 79199 Kirchzarten/Germany
Tel. +49 7661 9331-0
info@fenningbiomed.de/com