

Dr. Fenning
BioMed GmbH

fr-elisa

Autoimmune-Diagnostic

Cardiolipin-IgA

11027

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 Cardiolipin-IgA

Product-No. 11027

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:

Autoantibodies against phospholipids (APAs) have been associated with the occurrence of thrombosis, thrombocytopenia, fetal abort, cerebro-vascular insufficiency and myocardial infarction (anti-phospholipid syndrome). Anti-cardiolipin antibodies may be IgG, IgM or IgA: the clinical significance of the three main immunoglobulin subclasses is a subject of controversial discussion. The presence of IgG anti-cardiolipin antibodies appears to be the most predictive and specific test for thrombosis, thrombocytopenia, and recurrent fetal loss. In addition anti-cardiolipin IgG antibody titers are closely associated with neurologic complications in systemic lupus erythematosus patients and in patients with other autoimmune diseases. However patients with anticardiolipin-associated clinical features often have elevated IgM and IgA anti-cardiolipin antibodies. Therefore it has become clinically relevant to determine the presence of each of these classes of autoantibodies in patient serum.

- 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).
- COWCHOCK S, FORT J, MUNOZ S, NORBERG R et al. False positive ELISA test for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortions, rheumatologic disorders, and primary biliary cirrhosis: Correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortions. Clin. Exp. Immunol., 73: 289-294 (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)

Principle of the Test:

The kits are solid-phase enzyme immunoassays. Microtitre wells are coated with cardiolipin and β 2-glycoprotein I (β 2-GPI, apolipoprotein H), the latter being cardiolipin co-factor, which forms complexes with cardiolipin. The presence of cardiolipin and β 2-glycoprotein 1 complexes allows specific cardiolipin antibodies to bind to the solid phase. 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.

The calibrator concentrations are set up to: 3.125, 12.5, 50, 100 APL, referenced to Prof. N. Harris Reference Standard (Louisville University, KY, USA). 1 APL corresponds to 1 μ g/ml of affinity-purified IgA.

Contents of the Test Kit:

- 12 x 8 coated microtiter test strips, prefixed in the frame
- 4 x calibrators, ready to use 3.125APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL; 1000 μ l 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; 1000 μ l
- 1 x positive control serum; ready to use; 1000 μ l
- 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 APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL). 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.

Cardiolipin-IgA values lower than 6 APL are judged as negative.

Cut-off = 6 APL

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 Cardiolipin-IgA

Prodotto No. 11027

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:

Gli autoanticorpi anti-fosfolipidi (APA) sono stati associati a trombosi, trombocitopenia, aborti ripetuti, insufficienza cerebro-vascolare e infarto del miocardio (sindrome anti-fosfolipidi). Gli anticorpi anti-cardiolipina possono essere di classe IgG, IgM o IgA: il significato clinico delle tre principali classi di immunoglobuline è tuttora oggetto di controversia. La presenza di IgG anti-cardiolipina sembra il test più specifico e con maggior valore predittivo per la presenza di trombosi, trombocitopenia e aborti ripetuti. Inoltre, i titoli anticorpali di IgG anti-cardiolipina sono strettamente correlati con complicazioni neurologiche nei pazienti con lupus erythematosus systemicus o con altre malattie autoimmuni. Tuttavia, i pazienti con quadro clinico associato alla presenza di anticorpi anti-cardiolipina presentano spesso livelli elevati di IgM ed IgA anti-cardiolipina. È pertanto diventato clinicamente importante determinare la presenza di ciascuna classe anticorpale nel siero dei pazienti

- 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).
- COWCHOCK S, FORT J, MUNOZ S, NORBERG R et al. False positive ELISA test for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortions, rheumatologic disorders, and primary biliary cirrhosis: Correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortions. *Clin. Exp. Immunol.*, 73: 289-294 (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 dosaggio:

I kit sono dosaggi immunoenzimatici in fase solida. I pozzetti della micropiastra sono rivestiti con cardiolipina e β 2-glicoproteina I (β 2-GPI, apolipoproteina H), che è il cofattore della cardiolipina, in grado di formare complessi con la cardiolipina. La presenza di complessi tra cardiolipina e β 2-glicoproteina I permette il legame tra anticorpi anti-cardiolipina e fase solida. 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.

Le concentrazioni dei calibratori sono le seguenti: 3.125, 12.5, 50, 100 APL, standardizzate sullo Standard di Riferimento del Prof. N. Harris (Louisville University, KY, USA). 1 APL corrisponde a 1 μ g/ml di IgA purificate per cromatografia di affinità.

Materiali forniti con ogni kit:

- 12 x 8 strip da microtitolazione rivestite.
- 4 x calibratori, pronto per l'uso, 3.125APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL; 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** e 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 APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL). 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 Cardiolipin-IgA inferiori a 6 APL sono classificati negativi.

Cut-off = 6 APL

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 Cardiolipin-IgA Antikörpern

Artikel Nr.: 11027

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

Antikörper gegen Phospholipide (APA) werden bei ihrem Auftreten mit Thrombosen, Thrombocytopenie, fötalem Abort, cerebraler, vaskulärer Insuffizienz und myocardialem Infarkt in Zusammenhang gebracht (Phospholipidsyndrom). Die anti-Cardiolipin Antikörper sind vor allem vom IgG, IgM oder IgA Isotyp. Die klinische Bedeutung der drei Hauptsubklassen der Immunglobuline ist Gegenstand kontroverser Diskussionen. Das Auftreten von IgG anti-Cardiolipin Antikörpern scheint der prognostisch am meisten spezifische Test für Thrombosen, Thrombocytopenie und fötalen Abort zu sein. Zusätzlich sind IgG anti-Cardiolipin Antikörpertiter bei Patienten mit einem SLE und bei Patienten mit anderen Autoimmunerkrankungen eng assoziiert mit dem Auftreten neurologischer Komplikationen. Wie auch immer zeigen Patienten mit anti-Cardiolipin typischen klinischen Befunden erhöhte Level von IgM und IgA anti-Cardiolipin Antikörpern. Daraus ergibt sich die klinische Relevanz, das Vorhandensein jeder dieser Autoantikörper-Subklassen in Patientenseren zu bestimmen

- 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).
- COWCHOCK S, FORT J, MUNOZ S, NORBERG R et al. False positive ELISA test for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortions, rheumatologic disorders, and primary biliary cirrhosis: Correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortions. Clin. Exp. Immunol., 73: 289-294 (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)

Testprinzip

Die Mikrotiterplatten sind mit Cardiolipin und β 2-glycoprotein 1 beschichtet. (β 2-GP1, apolipoprotein H); letzteres ist ein Cardiolipin - Kofaktor, der mit Cardiolipin Komplexe bildet. 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. Peroxidase-(aus Meerrettich) gebundenes anti-Humanes 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.

Die Standardreihe für die quantitative Auswertung des Tests wurde gegen die Harris-Referenzseren (APL) abgeglichen. 1 APL entspricht 1 μ g einer affinitätsgereinigten IgA-ACA-Fraktion.

Inhalt des Testkits

- 12 x 8 beschichtete Kavitäten im Rahmen vorgesteckt.
- 4 x Kalibratoren (gebrauchsfertig): 3,125 APL/ml; 12,5 APL/ml; 50 APL/ml; 100 APL/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 APL; 12,5 APL; 50 APL; 100 APL). Die Cardiolipin-Antikörper Konzentration der getesteten Seren wird mittels der Eichkurve bestimmt

Cardiolipin-IgA Konzentrationen kleiner als 6 APL sind negativ.

cut-off = 6 APL

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 Cardiolipin-IgA

Producto no. 11027

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:

A los anticuerpos antifosfolípidicos (AAF) se les asocia con casos de trombosis, trombocitopenia, abortos, insuficiencia cerebro-vascular y infarto de miocardio (síndrome antifosfolípidico). Los anticuerpos anticardiolipina pueden ser: IgG, IgM o IgA. El significado clínico de los tres tipos de inmunoglobulina más importantes aún está bajo discusión. La presencia del anticuerpo anticardiolipina IgG es la prueba más específica y predictiva de trombosis, trombocitopenia, y muerte fetal recurrente. Además, las valoraciones de anticuerpos anticardiolipina IgG van muy asociadas con complicaciones neurológicas en pacientes con LES y otras enfermedades autoinmunitarias. No obstante, los pacientes con características clínicas relacionadas con la anticardiolipina suelen tener un alto nivel de anticuerpos anticardiolipinas IgM y IgA. Por tanto, se considera importante determinar la presencia de cada una de estas clases de anticuerpos en el suero del paciente.

- 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).
- COWCHOCK S, FORT J, MUNOZ S, NORBERG R et al. False positive ELISA test for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortions, rheumatologic disorders, and primary biliary cirrhosis: Correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortions. *Clin. Exp. Immunol.*, 73: 289-294 (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 cardiolipina y β 2-glicoproteína I (β 2-GPI, apolipoproteína H), bovina y humana, cofactor esta última de la cardiolipina, con la que forma complejos. Los complejos de cardiolipina y β 2-glicoproteína I permiten la fijación de anticuerpos cardiolipínicos específicos a la fase sólida. 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. Las concentraciones de los calibradores son las siguientes : 3.125, 12.5, 50, 100 APL, según Prof. N. Harris Reference Standard (Louisville University, KY, USA). 1 APL corresponde a 1 μ g/ml de IgA purificada por afinidad.

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 APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL; 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 ultimo 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 APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL). 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 IgA anti-cardiolipina inferiores a 6 APL 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 anticorpos IgA anti-cardiolipina

N.º produto 11027

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:

Os auto-anticorpos anti-fosfolípidos (APA) têm sido associados à ocorrência de trombose, trombocitopenia, aborto fetal, insuficiência vascular cerebral e enfarte do miocárdio (síndrome anti-fosfolípidos). Os anticorpos anti-cardiolipina podem ser IgG, IgM ou IgA: o significado clínico das três principais subclasses de imunoglobulinas é um tema controverso. A presença de anticorpos IgG anti-cardiolipina parece ser o teste mais preditivo e mais específico para trombose, trombocitopenia e perda fetal recorrente. Além disso, os títulos de anticorpos IgG anti-cardiolipina estão estritamente associados a complicações neurológicas em doentes com lúpus eritematoso sistémico e em doentes com outras doenças auto-imunes. Todavia, os doentes com características clínicas associadas a anticorpos anti-cardiolipina têm frequentemente também elevação dos anticorpos IgM e IgA anti-cardiolipina. Deste modo, tornou-se clinicamente relevante determinar a presença de cada uma destas classes de auto-anticorpos no soro dos doentes.

- 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).
- COWCHOCK S, FORT J, MUNOZ S, NORBERG R et al. False positive ELISA test for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortions, rheumatologic disorders, and primary biliary cirrhosis: Correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortions. Clin. Exp. Immunol., 73: 289-294 (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)

Princípio do teste:

Os kits são imunoensaios enzimáticos de fase sólida. Os micropoços são revestidos com cardiolipina e β 2-glicoproteína I (β 2-GPI, apolipoproteína H), sendo esta última cardiolipina co-factor a que forma complexos com a cardiolipina. A presença de cardiolipina e β 2-glicoproteína I complexa permite os anticorpos específicos da cardiolipina a ligarem-se na fase sólida. Os poços de micropoços pré-revestidos com antígeno 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 cromogéneo e os auto-anticorpos são medidos com um leitor de placas espectrofotométrico. As concentrações do calibrador são definidas para: 3,125, 12,5, 50 e 100 APL, referenciadas ao Padrão de Referência do Prof. N. Harris (Louisville University, Kentucky, EUA). 1 APL corresponde a 1 μ g/ml de IgA purificada por afinidade.

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 APL, 12,5 APL, 50 APL e 100 APL; 1000 μ l 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 μ l
- 1 x soro de controlo positivo pronto a usar; 1000 μ l
- 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 APL, 12,5 APL, 50 APL e 100 APL). 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 IgA anti-cardiolipina inferiores a 6 APL são considerados negativos.

Cut-off = 6 APL

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 Cardiolipine-IgA

N° Produit 11027

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:

Les anticorps contre les phospholipides (APAs) ont été associés à l'apparition de thrombose, thrombocytopénie, avortement fœtal, insuffisance cérébro-vasculaire et infarctus du myocarde (syndrome anti-phospholipides). Les anticorps anti-cardiolipine peuvent être de type IgG, IgM ou IgA: la signification clinique de ces trois sous-classes principales d'immunoglobulines est un sujet de discussion controversée. La présence d'anti-cardiolipine IgG semble être le test le plus prédictif et le plus spécifique pour la thrombose, la thrombocytopénie et la perte fœtale récurrente. De plus, les titres d'anticorps anti-cardiolipine IgG sont étroitement associés avec des complications neurologiques dans le lupus érythémateux systémique et chez les patients avec d'autres maladies auto-immunitaires. Cependant, les patients avec des données cliniques associées aux anti-cardiolipines ont souvent des taux d'anticorps anti-cardiolipine IgM et IgA élevés. Il est donc devenu important cliniquement de déterminer la présence de chacune de ces classes d'auto-anticorps dans le sérum des patients.

- 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).
- COWCHOCK S, FORT J, MUNOZ S, NORBERG R et al. False positive ELISA test for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortions, rheumatologic disorders, and primary biliary cirrhosis: Correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortions. Clin. Exp. Immunol., 73: 289-294 (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)

Principe de la Méthode:

Les kits sont des tests immunologiques enzymatiques en phase solide. Les puits de micro-titration sont recouverts de cardiolipine et de β 2-glycoprotéine I (β 2-GPI, apolipoprotéine H), ce dernier étant un co-facteur de la cardiolipine, qui forme des complexes avec la cardiolipine. La présence de complexes cardiolipine et β 2-glycoprotéine I permet à certains anticorps cardiolipine spécifiques de se lier à la 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 Les concentrations de l'étalon sont de : 3.125; 12.5; 50; 100 APL, en référence au Standard de Référence du Prof. N. Harris (Louisville University, KY, USA). 1 APL correspond à 1 μ g/ml de l'IgA sans affinité.

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 APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL; 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, 10 ml
- 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.

Etapes 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**, pré-dilué)
- incubé **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
- incubé **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
- incubé **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 APL; 12.5 APL; 50 APL; 100 APL). 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 cardiopiline-IgA inférieures à 6 APL sont considérées négatives.

Cut-off = 6 APL

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 Thimérosal (<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 καρδιολιπίνης Αρ. Προϊόντος 11027

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 μικροπιλοποίησης 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:

Τα αυτοαντισώματα έναντι των φωσφολιπιδίων (APA) έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση θρόμβωσης, θρομβοκυτοπενίας, εμβρυϊκής αποβολής, αγγειοεγκεφαλικής ανεπάρκειας και εμφράγματος του μυοκαρδίου (αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο). Τα αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης μπορεί να είναι IgG, IgM ή IgA: Η κλινική σημασία των τριών κύριων υποκατηγοριών ανοσοσφαιρινών είναι αντικείμενο αντικρουόμενων απόψεων. Η παρουσία αντισωμάτων IgG έναντι της καρδιολιπίνης φαίνεται να είναι η εξέταση με την μεγαλύτερη προγνωστική ικανότητα και ειδικότητα για θρόμβωση, θρομβοκυτοπενία και επανειλημμένες εμβρυϊκές αποβολές. Επιπρόσθετα οι τίτλοι αντισωμάτων IgG έναντι της καρδιολιπίνης σχετίζονται στενά με νευρολογικές επιπλοκές σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο και σε ασθενείς με άλλες αυτοάνοσες νόσους. Ωστόσο, οι ασθενείς με κλινικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την αντικαρδιολιπίνη συχνά έχουν αυξημένα αντισώματα IgM και IgA έναντι της καρδιολιπίνης. Επομένως έχει καταστεί κλινικά σχετικός ο προσδιορισμός της παρουσίας καθεμίας από αυτές τις κατηγορίες αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών.

- 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).
- COWCHOCK S, FORT J, MUNOZ S, NORBERG R et al. False positive ELISA test for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortions, rheumatologic disorders, and primary biliary cirrhosis: Correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortions. *Clin. Exp. Immunol.*, 73: 289-294 (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)

Αρχή της δοκιμασίας:

Τα kit είναι ενζυμικοί προσδιορισμού στερεάς φάσης. Οι κυψελίδες μικροπιλοποίησης είναι επικαλυμμένες με καρδιολιπίνη και β2-γλυκοπρωτεΐνη (β2-GPI, απολιποπρωτεΐνη H), ο σχηματιζόμενος στη συνέχεια συμπάροντας καρδιολιπίνης, δημιουργεί, σύμπλοκο με την καρδιολιπίνη. Η παρουσία των συμπλόκων καρδιολιπίνης και β2-γλυκοπρωτεΐνης, επιτρέπει στα ειδικά αντισώματα καρδιολιπίνης να συνδεθούν με τη στερεά φάση. Οι προεπικαλυμμένες με αντιγόνο υποδοχές μικροπλάκων 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 μετρούνται με χρήση φασματοφωτομετρικής συσκευής ανάγνωσης πλάκων.

Οι συγκεντρώσεις βαθμονομητή τίθενται σε: 3,125, 12,5, 50, 100 APL, με αναφορά το Πρότυπο Αναφοράς Prof. N. Harris Reference Standard (Louisville University, KY, USA). 1 APL αντιστοιχεί σε 1 μg/ml κεκαθαυμένης μέσω συγγένειας IgA.

Περιεχόμενα του kit δοκιμασίας:

- 12 x 8 επικαλυμμένες δοκιμαστικές ταινίες μικροπιλοποίησης, στερεωμένες εκ των προτέρων σε πλαίσιο.
- 4 x βαθμονομητές, έτοιμοι για χρήση 3,125 APL, 12,5 APL, 50 APL, 100 APL, 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 αραιώσης 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

- 100μl 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 αραιώσης δείγματος, χρώματος ώχρας, προαραιωμένο)
- Επώαστε για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- Εκπλύνετε τις πλάκες μικροτιλοποίησης 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 100μl πράσινου ενζυμικού διαλύματος συζυγούς σε κάθε υποδοχή.
- Επώαστε 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.
- Επώαστε για 30 min με πλήρη προστασία από το φως σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προσθέστε 50μl 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 APL, 12,5 APL, 50 APL, 100 APL). 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 καρδιολιπίνης μικρότερες των 6 APL 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").

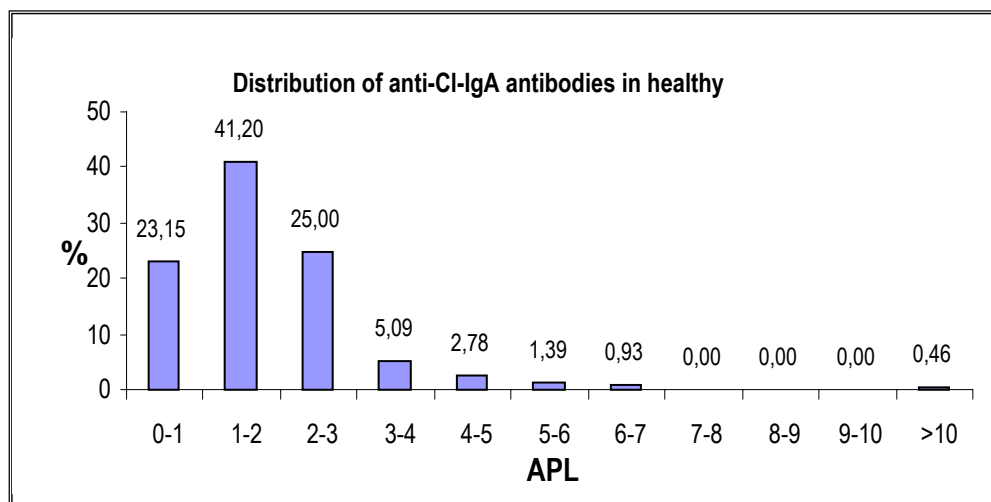
Προφυλάξεις:

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' Tetramethylbenzidine. Το διάλυμα τερματισμού περιέχει 2,6% θεϊκό οξύ. Για το λόγο αυτό, χειριστείτε όλα τα μέρη ως δυνητικά επικίνδυνα.

Technical Data: Cardiolipin-IgA 11027

1. Distribution of anti-Cardiolipin-IgA antibodies in healthy individuals



Specificity %	number	APL/ml	Recommended Cut-off
≥ 95%	209	<5	
≥ 99%	215	<7	6 APL/ml

2. Precision

	Repeatability (n=24)			Reproducibility (n=72)			
	1	2	3	1	2	3	
Mean	30.38	15.41	8.83	Mean	32.69	16.67	9.63
S.D.	1.26	0.54	0.40	S.D.	2.49	1.14	0.83
C.V.	4.15	3.48	4.54	C.V.	7.60	6.80	8.60

3. Dilution

Dilution			
	Expected APL	Measured APL	Recovery %
1 : 1		53.8	
1 : 2	26.9	28.1	104.1
1 : 4	13.5	14.1	104.8
1 : 8	6.7	7.9	117.6

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 Cardiolipin-IgA, Sept 2009

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