







# TECHNOZYM<sup>®</sup> ADAMTS-13 Antigen



REF	5450601	TECHNOZYM <sup>®</sup> ADAMTS-13 Antigen	
REF	5450661	TECHNOZYM <sup>®</sup> ADAMTS-13 Antigen Calibrator Set	5 x 0.5 mL
REF	5450663	TECHNOZYM <sup>®</sup> ADAMTS-13 Antigen Control Set	2 x 0.5 mL

## Symbols key / Symbolschlüssel / символы

	manufactured by / Hergestellt von / fabriqué par / производитель	<b>DIL</b>	dilute or dissolve in / verdünnen oder lösen in / à diluer ou à dissoudre / разбавить, или растворить в
	expiry date / Verfallsdatum / date d'expiration / срок годности	<b>INC</b>	incubation buffer / Inkubationspuffer / tampon d'incubation / Инкубационный буфер
	storage temperature / Lagertemperatur / température de conservation / температура хранения	<b>LOT</b>	lot / Charge / lot / лот
	consult instructions for use / Gebrauchsanweisung beachten / consulter la notice d'utilisation / перед использованием прочитайте инструкцию	<b>MTP</b>	microtiter plate / Mikrotiterplatte / microplaques sensibilisées / микроплашка
<b>CE</b>	CE-mark / CE-Kennzeichnung / marquage CE / маркировка CE	<b>REF</b>	catalogue number / Katalognummer / référence / каталожный номер
	determinations / Bestimmungen / déterminations / определений	<b>RTU</b>	ready to use / gebrauchsfertig / prêt à l'emploi / готов к использованию
<b>AQUA</b>	distilled water / destilliertes Wasser / eau distillée / дистиллированная вода	<b>SUB</b>	substrate / Substrat / substrat / субстрат
<b>CAL</b>	calibrator / Kalibrator / calibreteur / калибратор	<b>STOP</b>	stop solution / Stopplösung / solution d'arrêt / стоп раствор
<b>CONJ</b>	conjugate / Konjugat / conjugué / конъюгат	<b>WASH</b>	washing solution concentrate / Waschlösungskonzentrat / concentrado de solución de lavado / концентрат промывочного раствора
<b>CONT</b>	control / Kontrolle / contrôle / контроль		



## PRODUCT DESCRIPTION

### INTENDED USE

The TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigen ELISA is a chromogenic test for the determination of ADAMTS-13 antigen concentration in human plasma. ADAMTS-13 is the enzyme that cleaves vWF under laminar flow conditions. A functional defect of this enzyme leads to the presence of higher molecular weight forms of vWF and thus to increased platelet aggregation, mainly in the microvasculature. This is believed to be the major cause for thrombotic thrombocytopenic Purpura (TTP).

### COMPOSITION

- ELISA test strips (12), with 8 wells each, coated with a monoclonal anti ADAMTS-13 antibody, directed against the CUB domain; the drying agent is supplied in an aluminium bag.
- Washing buffer concentrate (PBS; pH 7.3); containing detergent; 0.01% merthiolate; 1 vial, 80 mL.
- Incubation buffer (= sample dilution buffer) (PBS; pH 7.3); contains stabiliser protein; 0.05% proclin; and dye, 1 vial, 90 mL, ready for use.
- Calibrators (Standards) numbered from 1 to 5; lyophilised; 1 vial each; 0.5 mL. **Concentrations are lot-specific; consult the label on the vial.**
- High and Low control plasma; lyophilised; 1 vial each; 0.5 mL. **Concentrations are lot-specific; consult the label on the vial.**
- Conjugate: anti-ADAMTS-13 POX; dyed blue; 1 vial, 0.3 mL.
- Chromogenic substrate TMB (tetramethylbenzidine); 1 vial; 12 mL; ready to use.
- Stopping solution sulphuric acid 0.45 mol/L; 1 vial; 12 mL; ready to use.
- Adhesive film: for ELISA test strips; 2 pieces.

### MATERIAL REQUIRED (not supplied with the kit)

- Distilled water
- Measuring cylinder (1000 mL)
- Precision pipettes (50, 100 and 1000 µL)
- Variable pipette (100 and 1000 µL)
- Multichannel and/or dispensing pipettes (100 and 200 µL)
- ELISA washer or multichannel pipette
- ELISA reader with 450 nm filter, with a 620 nm reference filter if available.

### WARNING AND PRECAUTIONS

- For research use only
- All human blood or plasma products as well as samples must be considered as potentially infectious. They have to be handled with appropriate care and in strict observance of safety regulations. The rules pertaining to disposal are the same as applied to disposing hospital waste.
- Calibrators and control plasmas are made from human blood and any individual plasma involved in the procedure is HBsAg, HIV 1/2 Ab and HCV-Ab-negative (see labels on the vials). However, all human blood products should be handled as potentially infectious material.
- Stopping solution may irritate the skin. Should acid get into your eyes, wash out immediately with water and consult a doctor.
- The reagents sometimes contain preserving agents (merthiolate). Beware of swallowing! Avoid contact with skin or mucous membranes!

### STABILITY AND STORAGE

The expiry date printed on the labels applies to storage of the unopened vial at + 2...8 °C.

Stability after reconstitution/opening:

Material/Reagent	State	Storage	Stability
Calibrators, control plasmas	after reconstitution	-20 °C	6 months
ELISA test strip	after opening	2 ... 8 °C with adhesive film in plastic bag with drying agent	expiry date
Washing buffer conc.	after opening	2 ... 8 °C	6 months
Washing buffer	1+11.5 dilution of concentrate	2 ... 8 °C	3 weeks
Incubation buffer (= sample dilution buffer)	after opening	2 ... 8 °C	2 months
Conjugate	after opening	2 ... 8 °C	6 months
	working solution	room temperature	60 minutes
Chromogenic substrate TMB	after opening	2 ... 8 °C	expiry date

### TEST PROCEDURE

#### PREPARATION OF THE SAMPLES

Sample material: Human citrated plasma. Samples may be stored for three hours at room temperature. At -20°C they can be stored for several months. Samples may not be frozen and thawed several times.

#### PREPARATION OF REAGENT

- Before starting the test, all the required components are to be brought to room temperature.
- Preparing the washing buffer: Dilute 1 part by volume washing buffer concentrate with 11.5 parts by volume distilled water (1+11.5). Mix well! (Diluted washing buffer concentrate = washing buffer). There may be crystalline precipitations which will dissolve at 37°C within 10 minutes.
- Reconstituting calibrators and control plasmas: Calibrators and control plasmas are reconstituted with 500 µL distilled water and mixed for 10 seconds after a reconstitution time of 15 minutes (vortex mixer). **Reconstituted components are clear to slightly turbid. No dilution is necessary for calibrators and controls!**
- Samples are used undiluted
- Preparing the conjugate working solution (1+50): Dilute 1 part by volume conjugate with 50 parts by volume incubation buffer.

**For 8 test wells: Mix 10 µL conjugate with 500 µL incubation (= sample dilution) buffer**

### PERFORMANCE OF THE TEST

<b>SAMPLE INCUBATION</b> (reference 1,2)	Pipette calibrators, control plasmas, samples into test wells; cover test strips with film	50 µL
	Incubate at room temperature	120 minutes
<b>WASHING</b> (reference 1,3,4)	Washing buffer	4 x 250 µL
	Pipette conjugate working solution into wells, cover test strip with film	50 µL
<b>CONJUGATE REACTION</b> (reference 1,2)	Incubate at room temperature	60 minutes
	Washing buffer	4 x 250 µL
<b>SUBSTRATE REACTION</b> (reference 1,2)	Pipette Substrate solution into test wells, cover test strip with film	50 µL
	Incubate at room temperature	15 minutes
<b>STOPPING</b> (reference 1,2)	Pipette stopping solution into wells	50 µL
<b>MEASURING</b> (reference 5)	ELISA-Reader, 450 nm	shake 10 sec., measure within 10 min.

#### References

- Reagents of different lots must not be combined
- Precision and performance, among others, essentially depend on the following factors:
  - Thorough mixing of all substances used for dilution, 10 sec. with Vortex Mixer
  - Test calibrators, controls and samples in duplicates
  - Incubate at indicated temperature (RT: room temperature, 20 - 25°C)
  - Strict observance of the order of pipetting and of the time element as indicated
  - The time for sample incubation, conjugate and substrate reaction as indicated starts after pipetting the last sample. Incubation times should not vary by more than ± 5%.
  - During sample incubation and conjugate reaction, the time for pipetting calibrators/control plasmas/samples and/or conjugate solutions must not exceed 60 seconds per ELISA test strip (8 wells).
  - During substrate reaction and at stopping, the time needed for pipetting the substrate and/or the stopping solution must not exceed 10 seconds per ELISA test strip. Short pipetting times may be secured by using multichannel- and dispensing pipettes.
- Label/number strips with a water resistant pen in case the strips accidentally fall out of the frame during testing.
- After the last washing, wells must be aspirated thoroughly, turned upside down and positioned on a blotting paper, by gentle tapping, the last remnants must be removed.
- By measuring the difference in wave lengths at 450 and 620 nm the precision of the test is increased.
- A calibration curve has to be created for every assay

### LIMITATION OF THE TEST

It can not be excluded that certain forms of ADAMTS-13 (with mutations in the CUB domains) are not equivalently measured due to reduced binding to the capture antibody on the plate. Thrombin is reported to degrade ADAMTS13. Therefore serum samples should be avoided.

### ANALYSES RESULTS

#### CALCULATION OF THE RESULTS

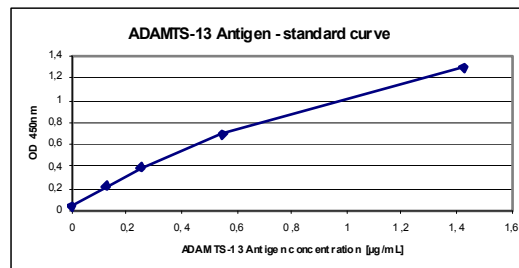
**Setting up a reference curve:** X axis: concentration ADAMTS-13 antigen [µg/mL]  
Y axis: Extinction at 450 nm

Graph plot is linear-linear with a cubic spline, linear or point to point fit.

#### Assessment of reference curve

- The extinction coefficient of the highest calibrator should be between 1.0 and 2.5.
- The extinction coefficient of the lowest Calibrator should be <0.15.
- The extinction difference between these two values should be at least 1.0.
- The validity of the test may be checked on the basis of the calculated control values.

#### Example of standard curve



#### Measuring concentration of samples

- Read off the concentration from the reference curve.
- If there are samples with extinction coefficients higher than that of the highest point on the curve, they have to be prediluted with incubation buffer (1+1, or 1+3). The measured concentration then has to be multiplied with the dilution factor 2 or 4, respectively.

### INTERPRETATION OF RESULTS / REFERENCE RANGE

Normal range for ADAMTS-13 Antigen concentration: 0.60 – 1.60 µg/mL (n=159)  
Normal range can vary depending on local population. It is recommended that individual laboratories establish their own normal. When interpreting the serological results the history of the patient has to be taken into account.

### STANDARDISATION

Calibrators and controls are calibrated against purified recombinant ADAMTS13 protein diluted in ADAMTS13 depleted plasma.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance data are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

#### PRECISION

Reproducibility was determined with different samples (in series and day to day). The following results were obtained.

Sample	Intra assay variation		Inter assay variation	
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
N	96	40	8	8
Mean (µg/mL)	1.3	0.72	0.72	0.15
SD µg/mL)	3.8	0.04	0.05	0.01
CV (%)	3.6	5.2	6.8	7.2

#### ASSAY RANGE

0 µg/mL – 1,5 µg/mL

#### DETECTION LIMIT

0,02 µg/mL

#### CORRELATION

Correlation with antigen in Technozym ADAMTS-13 fluorogenic method is  $r^2 = 0.9$  for normal samples and  $r^2 = 0.91$  for TTP samples

#### LITERATURE

- Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Hematol. 2004 407-423
- Majerus EM, Anderson PJ, Sadler JE. Binding of ADAMTS13 to von Willebrand factor. J Biol Chem. 2005 Jun 10;280(23):21773-8.
- Sadler JE. A new name in thrombosis. ADAMTS13. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99: 11552-11554.
- Dong JF, Moake JL, Molasco L et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultra-large von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. Blood, 2002 Dec 1, 100(12):4033-9
- Fontana S, Hovinga JA, Stundt JD, Alberio L, LammLe B et al. Plasma therapy in thrombotic thrombocytopenic purpura: review of the literature and the Bern experience in a subgroup of patients with severe acquired ADAMTS-13 deficiency. Semin Hematol. 2004 Jan, 41(1):48-59

## PRODUKTBESCHREIBUNG

### ANWENDUNG

Der TECHNOZYM® ADAMTS-13 ELISA ist ein chromogener Test zur Bestimmung der ADAMTS-13 Antigenkonzentration in humanem Plasma. ADAMTS-13 ist das Enzym, das in Gegenwart von Scherkräften für die Spaltung von vWF verantwortlich ist. Ein funktionaler Defekt dieses Enzyms führt zu ungewöhnlich großen vWF Molekülen und dadurch zu erhöhter Plättchenaggregation, hauptsächlich in der Mikrovaskulatur. Dieser Vorgang wird als Hauptursache der thrombotischen thrombozytopenischen Purpura (TTP) angesehen.

### ZUSAMMENSETZUNG

- ELISA-Teststreifen (12): mit jeweils 8 Testvertiefungen; beschichtet mit monoklonalem anti ADAMTS-13 Antikörper, der gegen die CUB Domäne gerichtet ist; mit Trocknungsmittel im Aluminiumbeutel verpackt.
- Waschpufferkonzentrat: (PBS; pH 7,3); detergentshaltig; 0,01% Merthiolat; 1 Fl.; 80 mL.
- Inkubationspuffer (=Probenverdünnungspuffer): (PBS; pH 7,3); enthält Stabilisatorprotein; 0,05% Proclin; und Farbstoff; 1 Fl.; 90 mL; gebrauchsfertig
- Kalibratoren (Standards): nummeriert von 1-5; lyophilisiert; je eine Fl.; 0,5 mL.  
**Die chargenabhängigen Konzentrationen entnehmen Sie bitte den Flaschenetiketten!**
- Positive und negative Kontrollplasmen, lyophilisiert; je eine Fl.; 0,5 mL.  
**Die chargenabhängigen Konzentrationen entnehmen Sie bitte den Flaschenetiketten!**
- Konjugat: anti-ADAMTS-13 POX; blauefarbt; 1 Fl.; 0,3 mL
- Chromogenes Substrat: TMB (Tetramethylbenzidin) 1 Fl., 12 mL, gebrauchsfertig
- Stopplösung: Schwefelsäure 0,45 mol/L; 1 Fl.; 12 mL, gebrauchsfertig
- Ablebefolien: für ELISA-Teststreifen; 2 Stk.

### BENÖTIGTES MATERIAL (nicht im Kit enthalten)

- Aqua dest.
- Messzylinder (1000 mL)
- Präzisionspipetten (50, 100 und 1000 µL)
- Variable Pipette (100 und 1000 µL)
- Mehrkanal- bzw. Dispensierpipetten (100 und 200 µL)
- ELISA-Waschgerät oder Mehrkanalpipette
- ELISA-Reader mit 450 nm Filter und 620 nm Referenzfilter falls verfügbar.

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Nur für Forschungszwecke
- Alle humanen Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln und wie Krankenhausmüll zu entsorgen.
- Obwohl alle Kalibratoren und Kontrollen, hergestellt aus humanem Blut, und alle hierzu verwendete Einzelplasmen HbsAg, HIV 1/2 Ak und HCV-Ak negativ (siehe Flaschenetikett) sind, müssen sie als potentiell infektiös betrachtet werden.
- Stopplösung kann zu Reizungen der Haut führen. Sollte Säure in die Augen gelangen, sofort mit viel Wasser auswaschen und einen Arzt aufsuchen!
- Die Reagenzien enthalten teilweise Konservierungsmittel (Merthiolat). Nicht schlucken! Haut- oder Schleimhautkontakt vermeiden!

### LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Reagenzien sind ungeöffnet bei +2...8°C zu lagern und bis zu dem auf den Etiketten angegebenen Datum verwendbar.

Stabilität nach Rekonstitution/nach Öffnen:

Material/Reagenz	Zustand	Lagerung	Stabilität
Kalibratoren, Kontrollplasmen	nach Rekonstitution	-20 °C	6 Monate
ELISA-Teststreifen	nach Öffnen	2 ... 8 °C mit Ablebefolie in Alubeutel mit Trockenmittel	Verfallsdatum
Waschpufferkonzentrat	nach Öffnen	2 ... 8°C	6 Monate
Waschpuffer	1+11,5 Verdünnung des Konzentrats	2 ... 8 °C	3 Wochen
Inkubationspuffer (=Probenverdünnungspuffer)	nach Öffnen	2 ... 8 °C	2 Monate
Konjugat	nach Öffnen	2 ... 8 °C	6 Monate
	Gebrauchslösung	Raumtemperatur	60 Minuten
Chromogenes Substrat TMB	nach Öffnen	2 ... 8 °C	Verfallsdatum

### TESTDURCHFÜHRUNG

#### VORBEREITUNG DER PROBEN

Probenmaterial: Humanes Citratplasma. Proben können bis zu 3 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt werden. Bei -20°C können sie mehrere Monate aufbewahrt werden. Proben dürfen nicht mehrfach eingefroren und wieder aufgetaut werden.

#### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Vor Testbeginn alle benötigten Testkomponenten auf Raumtemperatur bringen.
- Herstellen des Waschpuffers: 1 Volumenteil Waschpufferkonzentrat mit 11,5 Volumenteilen Aqua dest. Verdünnen (1+11,5). Gut mischen! (Verdünntes Waschpufferkonzentrat = Waschpuffer). Eventuelle kristalline Niederschläge gehen bei 37°C innerhalb von 10 min in Lösung.
- Rekonstituieren der Kalibratoren und Kontrollplasmen: Die Kalibratoren und Kontrollplasmen werden mit **500 µL** Aqua dest. Rekonstituiert und nach einer Rekonstitutionszeit von 15 min, 10 Sekunden gemischt (Probenmischer). **Rekonstituierte Komponenten sind klar bis leicht trüb. Kalibratoren und Kontrollen werden nicht verdünnt!**
- Proben werden nicht verdünnt.
- Herstellen der Konjugatgebrauchslösung (1+50): 1 Volumenteil Konjugat mit 50 Volumenteilen Inkubationspuffer verdünnen.

**Für 8 Testvertiefungen: 10 µL Konjugat mit 500 µL Inkubationspuffer (=Probenverdünnungspuffer) mischen.**

### TESTVERFAHREN

PROBEN-INKUBATION (Hinweise 1,2)	Kalibratoren, Kontrollplasmen, Proben in Testvertiefung pipettieren. Teststreifen mit Folie abdecken	50 µL
WASCHEN (Hinweise 1,3,4)	Bei Raumtemperatur inkubieren Waschpuffer	120 Minuten 4 x 250 µL
KONJUGAT-REAKTION (Hinweise 1,2)	Konjugatgebrauchslösung in Testvertiefung pipettieren. Teststreifen mit Folie abdecken	50 µL
WASCHEN (Hinweise 1,3,4)	Bei Raumtemperatur inkubieren Waschpuffer	60 Minuten 4 x 250 µL
SUBSTRAT-REAKTION (Hinweise 1,2)	Substratlösung in Testvertiefungen pipettieren; Teststreifen mit Folie abdecken	50 µL
STOPPEN (Hinweis 1,2)	Bei Raumtemperatur inkubieren Stopplösung in Testvertiefungen pipettieren	15 Minuten 50 µL
MESSEN (Hinweise 5)	ELISA-Reader, 450nm	10 Sek. schütteln, Messung innerhalb von 10 Min.

#### HINWEISE

- Reagenzien verschiedener Chargen dürfen nicht kombiniert werden.
- Präzision und Wiederfindung hängen u.a. von folgenden Faktoren entscheidend ab:
  - Gute Durchmischung aller Verdünnungsansätze, 10 Sek. auf Probenmischer
  - Durchführung von Doppelbestimmungen
  - Inkubation bei der korrekten Temperatur (RT: Raumtemperatur; 20 - 25°C)
  - Genaue Einhaltung von Pipettierreihenfolge und Zeittakt.
  - Die angegebene Zeit für die Probeninkubation, Konjugat- und Substratreaktion wird nach der Pipettierung der letzten Probe genommen. Inkubationszeiten sollten um nicht mehr als ±5% variiert werden.
  - Bei der Probeninkubation und Konjugatreaktion darf die Zeit für die Pipettierung der Kalibratoren/Kontrollplasmen/Proben bzw. Konjugatlösung 60 Sek. pro ELISA-Teststreifen (8 Vertiefungen) nicht überschreiten.
  - Bei der Substratreaktion und beim Stoppen darf die Pipettierzeit der Substrat- bzw. Stopplösung 10 Sek. pro ELISA-Teststreifen nicht überschreiten. Kurze Pipettierzeiten werden durch Verwendung von Mehrkanal- bzw. Dispensierpipetten erreicht.
- Teststreifen mit wasserfestem Stift markieren, falls sie während des Testes versehentlich aus der Halterung fallen sollten.
- Nach dem letzten Waschvorgang müssen die Testvertiefungen leer gesaugt und auf saugfähigem Papier ausgeklöpft werden.
- Durch Differenzwellenlängenmessung bei 450 nm und 620 nm wird die Präzision des Tests erhöht. Für jeden Test muss eine neue Standardkurve erstellt werden.

### TESTEINSCHRÄNKUNGEN

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass manche Formen von ADAMTS-13 (mit Mutationen in den CUB-Domänen) eine geringere Affinität zu dem Bindungsantikörper auf der Platte besitzen und daher deren Konzentration nicht absolut vollständig bestimmt werden kann. ADAMTS13 kann durch Thrombin gespalten werden, daher sollten Serumproben vermieden werden.

### ANALYSENERGEBNISSE

#### BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

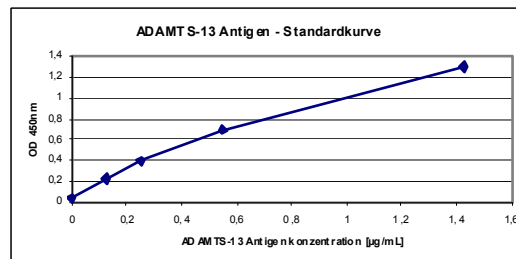
Erstellung der Bezugskurve: x-Achse: ADAMTS-13 Antigenkonzentration (µg/mL)  
y-Achse: Extinktion bei 450 nm

Bezugskurve ist linear-linear. Werte mittels Punkt zu Punkt miteinander verbinden.

#### Beurteilung der Bezugskurve:

- Die Extinktion des höchsten Kalibrators sollte zwischen 1.0 und 2.5 liegen
- Die Extinktion des niedrigsten Kalibrators sollte <0,15 sein.
- Die Extinktionsdifferenz dieser Kalibratoren sollte mindestens 1.0 sein.
- Die Auswertbarkeit des Tests kann anhand der ermittelten Kontrollwerte überprüft werden

#### Beispiel einer Standardkurve:



#### Konzentrationsbestimmung der Proben:

- Konzentrationen der Proben an der Bezugskurve ablesen
- Sollte der Extinktionswert einer Probe höher als der des höchsten Standards liegen, so muss die Probe mit Inkubationspuffer vorverdünnt werden (1+1 oder 1+3). Die ermittelte Konzentration wird in diesem Fall mit dem Verdünnungsfaktor 2 bzw. 4 multipliziert.

### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE/REFERENZBEREICH

Normalbereich für ADAMTS-13 Antigen Konzentration: 0,60 - 1,60 µg/mL (n=159)  
Der Normalbereich kann in Abhängigkeit von der lokalen Bevölkerung variieren. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen Normalbereich bestimmt. Die Beurteilung und Interpretation der serologischen Ergebnisse darf nur durch entsprechendes Fachpersonal erfolgen. Dabei muss die Patientenanamnese berücksichtigt werden.

### STANDARDISIERUNG

Die Kalibratoren und Kontrollen werden gegen gereinigtes rekombinantes ADAMTS13 Protein, verdünnt in ADAMTS13 depletierem Plasma, kalibriert.

### PRÄZISION

Die Reproduzierbarkeit wurde mit verschiedenen Proben bestimmt (in Serie und von Tag zu Tag). Die Ergebnisse sind wie folgt:

Probe	Intra assay		Inter assay	
	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
N	96	40	8	8
Mean (µg/ml)	1,3	0,72	0,72	0,15
SD (µg/ml)	3,8	0,04	0,05	0,01
CV (%)	3,6	5,2	6,8	7,2

### MESSBEREICH

0 µg/mL – 1,5 µg/ml

### BESTIMMUNGSGRENZE

0,02 µg/ml

### KORRELATION

Die Korrelation mit der Antigenbestimmung im Technozym ADAMTS-13 fluorogenen assay ist für Normalplasmen R<sup>2</sup>=0,9 und für TTP Plasmen R<sup>2</sup>=0,91

### LITERATUR

- Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Hematol. 2004 407-423
- Majerus EM, Anderson PJ, Sadler JE. Binding of ADAMTS13 to von Willebrand factor. J Biol Chem. 2005 Jun 10;280(23):21773-8.
- Sadler JE. A new name in thrombosis, ADAMTS13. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99: 11552-11554
- Dong JF, Moake JL, Molasco L et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. Blood, 2002 Dec 1, 100(12):4033-9
- Fontana S, Hovinga JA, Stundt JD, Alberio L, LammLe B et al. Plasma therapy in thrombotic thrombocytopenic purpura: review of the literature and the Bern experience in a subgroup of patients with severe acquired ADAMTS-13 deficiency. Semin Hematol. 2004 Jan, 41(1):48-59

## DESCRIPTION DU PRODUIT

### UTILISATION PRÉVUE

Le TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigen ELISA est un test chromogénique pour la détermination de l'ADAMTS-13 Antigène dans le plasma humain. L'ADAMTS-13 (désintégrine-like et métalloprotéinase avec thrombospondine de type 1 motif 13) est une protéase spécifique du facteur von Willebrand (vWF) ou vWF-CP qui clive spécifiquement et réduit la taille anormalement grande des multimères du facteur von Willebrand (vWF), lesquels permettent la formation d'agrégats plaquettaires dans la microcirculation où les forces de cisaillement sont élevées. Si l'activité de l'ADAMTS-13 est plus basse pour diverses raisons, le vWF circule sous la forme anormale de multimères de grandes tailles pouvant s'accumuler dans le sang entraînant des phénomènes de coagulation anormaux, par activation et adhésion des plaquettes puis formation de thrombi, qui peuvent à son tour générer un Purpura Thrombotique Thrombocytopenique (PTT).

### COMPOSITION

- 12 barrettes de test ELISA contenant 8 puits recouverts avec un anticorps monoclonal anti ADAMTS-13 directement dirigé contre le domaine CUB. Les barrettes sont emballées dans un sac en aluminium contenant un agent dessiccant.
- Tampon de lavage 10 fois concentré (PBS; pH 7.3) contenant un détergent merthiolate 0.01%, 1 flacon de 80 mL.
- Tampon d'incubation (= tampon de dilution des échantillons), (PBS; pH 7.3) contenant un stabilisant de protéine, 0.05% proclin, 1 flacon prêt à l'emploi de 90 mL.
- Calibres numérotés de 1 à 5, lyophilisés, chaque calibre est fourni dans un flacon de 0.5 mL. **Les concentrations sont dépendantes du lot; consulter les étiquettes sur les flacons.**
- Contrôles plasmatiques haut et bas, lyophilisés et fournis chacun dans un flacon de 0.5mL. **Les concentrations sont dépendantes du lot; consulter les étiquettes sur les flacons.**
- Solution de Conjugué : anticorps monoclonal anti-ADAMTS-13 POX, 1 flacon lyophilisé bleu de 0.3 mL.
- Substrat chromogène : TMB (tétraméthylbenzidine), 1 flacon prêt à l'emploi de 12 mL.
- Solution d'arrêt: acide sulfurique 0.45 mol/L; 1 flacon prêt à l'emploi de 12 mL.
- films protecteurs pour microplaque.

### MATÉRIEL REQUIS (non fourni avec le kit)

- Eau distillée
- Eprouvette graduée de 1000 mL
- Pipettes de précision (5, 50, 100, 1000 µL)
- Pipettes réglables (200 et 1000 µL)
- Pipettes multicanaux (100 et 200 µL)
- Automate de lavage ELISA ou pipettes multicanaux
- Lecteur de plaque ELISA équipée d'un filtre à 450 nm et si possible avec un filtre de référence à 620 nm

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Dispositif médical IVD uniquement pour le diagnostic in vitro.
- Tous les produits élaborés à partir de sang humain et de plasma aussi bien que tous les échantillons doivent être considérés comme étant potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec une attention particulière, et ceci dans la stricte observance des règles de sécurité. Les règles concernant le stockage des déchets sont identiques à celles appliquées à l'hôpital.
- Les standards et contrôles plasmatiques sont élaborés à partir de sang humain, et tous les plasmas utilisés ont été vérifiés HBS Ag, HIV 1/2 Ab et HCV-Ag négatifs (voir les étiquettes sur le kit et/ou sur les flacons). Cependant, tout plasma humain, ils doivent être manipulés comme du matériel potentiellement infectieux.
- La solution d'arrêt (acide sulfurique) peut être irritante pour la peau. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec de l'eau et consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent parfois des agents conservateurs (merthiolate). Ne pas les avaler ! Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses.

### STABILITÉ ET STOCKAGE

La date d'expiration des réactifs sur les flacons concernent uniquement le stockage des flacons non ouverts à +2 / +8°C. Stabilité après reconstitution / après ouverture:

Matériel/Réactif	État	Stockage	Stabilité
Calibres et contrôles	Après reconstitution	-20 °C	6 mois
Bandelettes de test ELISA	Après ouverture	2 ... 8 °C sous film adhésif avec agent dessiccant dans un sac en plastique	Date de péremption
Tampon de lavage concentré	Après ouverture	2 ... 8 °C	6 mois
Tampon de lavage	Dilué concentré au 1+11,5	2 ... 8 °C	3 semaines
Tampon d'incubation	Après ouverture	2 ... 8 °C	2 mois
Conjugué	Après ouverture	2 ... 8 °C	6 mois
Substrat Chromogène TMB	Solution de travail	Température ambiante	60 minutes
	Après ouverture	2 ... 8 °C	Date de péremption

### PROCÉDURE DU TEST

#### PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Matériel: Plasma citraté humain. Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 3 heures au maximum à température ambiante. Mais ils peuvent être stockés pendant plusieurs mois à -20°C. Les échantillons ne doivent pas être congelés et décongelés plusieurs fois.

#### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

- Avant de commencer les dosages, tous les composants doivent être placés et stabilisés à température ambiante.
- Préparation du tampon de lavage à utiliser: Diluer 1 vol de tampon de lavage concentré avec 11,5 volumes d'eau distillée (1+11,5). Bien mélanger ! Il se peut qu'il y ait des précipitations cristallines: celles-ci se dissolvent à 37°C en 10 minutes.

**Le tampon de lavage cité par la suite est toujours du tampon de lavage dilué**

- Reconstitution des calibres et des contrôles plasmatiques : Les calibres et les contrôles plasmatiques sont reconstitués avec 500 µL d'eau distillée. Attendre la stabilisation pendant 15 minutes puis agiter la solution au vortex pendant 10 secondes. Les solutions reconstituées sont claires ou très légèrement troubles.

**AUCUNE DILUTION n'est nécessaire pour les calibres et les contrôles.**

- Les échantillons sont utilisés non dilués
- Préparer la solution de travail pour le conjugué au 1/51ème (1+50). Diluer 1 vol de conjugué avec 50 volumes du tampon d'incubation.

**Pour 8 puits : mélanger 10µL de conjugué avec 500µL de tampon d'incubation**

### PERFORMANCE DU TEST

<b>INCUBATION DES ÉCHANTILLONS</b> (référence 1,2)	Ajouter les calibrateurs / contrôles / échantillons dans chaque puits	50 µL
<b>LAVAGE</b> (référence 1,3,4)	Incuber à température ambiante	120 minutes
<b>REACTION AVEC LE CONJUGUE</b> (référence 1,2)	Ajouter la solution de conjugué dans chaque puits	50 µL
<b>LAVAGE</b> (référence 1,3,4)	Incuber à température ambiante	60 minutes
<b>REACTION DU CHROMOGENE</b> (référence 1,2)	Ajouter la solution de substrat chromogène dans chaque puits	50 µL
<b>SOLUTION D'ARRÊT</b> (référence 1,2)	Incuber à température ambiante	15 minutes
<b>MESURE</b> (référence 5)	Ajouter la solution d'arrêt dans chaque puits	50 µL
	Lecture de plaque ELISA, 450 nm	Agiter 10 sec., mesurer avant 10 minutes

#### Références :

- Ne pas utiliser ensemble des réactifs provenant de différents lots.
- Le bon déroulement et la précision du test dépendent des facteurs suivants:
  - Bien mélanger les substances utilisées lors des dilutions : vortex 10 secondes.
  - Les standards, les contrôles et les échantillons doivent être testés en double.
  - Les incubations doivent être effectuées à la température indiquée (température ambiante : 20-25°C).
  - Respecter strictement l'ordre de pipetage et le temps d'incubation pour chaque élément comme indiqué.
  - Le temps d'incubation des échantillons, conjugués, et substrat démarre après le pipetage du dernier échantillon. Les temps d'incubation ne doivent pas varier de ± 5 %.
  - Durant l'incubation des échantillons et la réaction avec le conjugué, **les temps de pipetage du calibre / échantillon / contrôle et/ou des solutions conjuguées, ne doivent pas excéder 60 secondes par barrette de test ELISA (8 puits).**
  - Durant la réaction du substrat et lors de l'arrêt de la réaction, le temps nécessaire au pipetage du substrat et/ou de la solution d'arrêt ne doit pas excéder 10 secondes par barrette. Pour cela utiliser de préférence une pipette multicanaux
- Numéroté les barrettes avec un feutre résistant à l'eau au cas où les bandes tombent accidentellement de la plaque durant le test.
- Après le dernier lavage, les puits doivent être rigoureusement secs : pour cela, retourner la plaque d'analyse sur du papier absorbant et la taper doucement.
- En mesurant la différence de densité optique à 450 nm et 620 nm, la précision de l'analyse est augmentée.
- Une courbe de calibration doit être effectuée pour chaque analyse.

### LIMITES DU TEST

Il n'est pas exclu que certaines formes d'ADAMTS-13 (avec une mutation dans les domaines CUB) ne soient pas mesurées de façon équivalente due à la réduction de la liaison à l'anticorps fixé sur la microplaque.

### ANALYSE DES RÉSULTATS

#### CALCUL DES RÉSULTATS

##### Établissement de la gamme d'étalonnage :

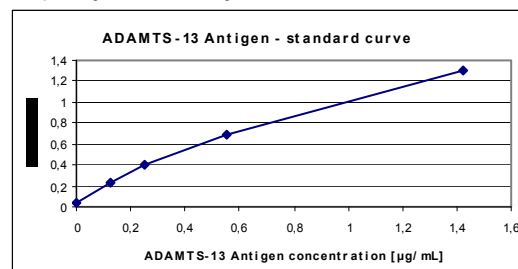
Axe des X: concentration d'antigène ADAMTS-13 (µg/mL)  
Axe des Y : Densité optique mesurée à 450 nm

Le graphique est de type linéaire-linéaire avec une droite de calibration polynomiale ou avec un tracé point à point.

##### Évaluation de la gamme d'étalonnage :

- La densité optique du calibre le plus grand doit se situer entre 1.0 et 2.5.
- La densité optique du plus faible calibre doit être inférieure à 0,15.
- La validité du test doit être vérifiée sur la base des valeurs calculées des contrôles.

##### Exemple de gamme d'étalonnage :



##### Mesure des concentrations des échantillons :

- Lire la concentration à partir de la gamme d'étalonnage.
- Si des échantillons ont une densité optique supérieure à celle du point le plus haut de la gamme d'étalonnage, ils doivent alors être pré-dilués avec le tampon de réaction (1+1 ou 1+3). La concentration mesurée doit alors être multipliée par 2 ou 4, respectivement.

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS / GAMME DE RÉFÉRENCE

Les valeurs normales pour la concentration en antigène de l'ADAMTS-13 sont comprises entre **0.6et 1.60 µg/mL (n=159)**. Il est recommandé pour chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Lors de l'interprétation des résultats sérologiques, l'historique du patient doivent être pris en compte.

### STANDARDISATION

Les standards et les contrôles ont été calibrés par rapport de l'ADAMTS-13 purifié recombinant dilué dans un plasma déplété en ADAMTS-13.

### PERFORMANCES

Les performances sont établies à partir des données ci-dessous. Les résultats obtenus peuvent varier selon les Laboratoires.

### PRÉCISION

La reproductibilité a été déterminée avec différents échantillons (en séries et sur plusieurs jours) Les résultats suivants ont été obtenus:

échantillon	Intra assay variation		Inter assay variation	
	échantillon 1	échantillon 2	échantillon 3	échantillon 4
N	96	40	8	8
Mean (µg/mL)	1.3	0.72	0.72	0.15
SD µg/mL)	3.8	0.04	0.05	0.01
CV (%)	3.6	5,2	6,8	7,2

### LINEARITÉ

0 µg/mL – 1,5 µg/mL

### LIMITE DE DÉTECTION

0,02 µg/mL

### CORRÉLATION

La corrélation de l'ADAMTS-13 antigène avec la méthode du Technozym ADAMTS-13 fluorogénique est de r<sup>2</sup>= 0.9 pour les échantillons normaux et de r<sup>2</sup>=0.91 pour les échantillons ayant un PTT.

### LITTÉRATURE

- Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Hematol. 2004 407-423
- Majerus EM, Anderson PJ, Sadler JE. Binding of ADAMTS13 to von Willebrand factor. J Biol Chem. 2005 Jun 10;280(23):21773-8.
- Sadler JE. A new name in thrombosis. ADAMTS13. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99: 11552-11554.
- Dong JF, Moake J, Molasco L et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultra-large von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. Blood, 2002 Dec 1, 100(12):4033-9
- Fontana S, Hovinga JA, Stundt JD, Alberio L, LammLe B et al. Plasma therapy in thrombotic thrombocytopenic purpura: review of the literature and the Bern experience in a subgroup of patients with severe acquired ADAMTS-13 deficiency. Semin Hematol. 2004 Jan, 41(1):48-59

## ОПИСАНИЕ ПРОДУКТА

### НАЗНАЧЕНИЕ

TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigen является хромогенным тестом для определения концентрации антигена ADAMTS-13 в плазме человека. ADAMTS-13 является ферментом, который расщепляет vWF в условиях ламинарного потока. Функциональные дефекты этого фермента приводят к наличию высокомолекулярных vWF и, поэтому, повышенной агрегации тромбоцитов, главным образом в микрокапиллярах. Это наиболее вероятная причина тромбоцитопенической тромбогемолитической пурпуры (ТТП).

### СОСТАВ

- ИФА тест стрипы (12), по 8 лунок каждый, покрытые моноклональными анти-ADAMTS-13 антителами, против домена CUB; осушающий агент находится в алюминиевом пакете.
- Концентрат промывочного буфера (PBS; pH 7.3); содержит детергент; 0.01% мертиолат; 1 флакон, 80 мл.
- Инкубационный буфер (=буфер для разведения проб) (PBS; pH 7.3); содержит белок-стабилизатор; 0.05% Проклин; и краситель, 1 флакон, 90 мл, готов к использованию.
- Калибраторы (Стандарты) пронумерованные от 1 до 5; лиофилизаты; 1 флакон каждого; 0,5 мл.  
**Концентрации лот-специфичны; см. наклейки флаконов.**
- Высокая и низкая контрольные плазмы; лиофилизаты; 1 флакон каждой; 0,5 мл.  
**Концентрации лот-специфичны; см. наклейки флаконов.**
- Конъюгат: анти-ADAMTS-13 ПОХ; синий; 1 флакон, 0,3 мл.
- Хромогенный субстрат ТМВ (тетраметилбензидин); 1 флакон; 12 мл; готов к использованию.
- Останавливающий раствор серной кислоты 0,45 моль/л; 1 флакон; 12 мл; готов к использованию.
- Клейкая пленка: для ИФА тест-стрипов; 2 шт.

### ПОТРЕБУЮТСЯ МАТЕРИАЛЫ (не входят в набор)

- Дистиллированная вода
- Мерный цилиндр (1000 мл)
- Прецизионные пипетки (50, 100 и 1000 мкл)
- Варипипетки (100 и 1000 мкл)
- Многоканальные пипетки и/или диспенсеры (100 и 200 мкл)
- ИФА Промыватель, или многоканальная пипетка
- Ифа ридер со светофильтрами 450 и 620 нм.

### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для исследовательских целей
- Все продукты человеческой крови или плазмы, а также пробы, должны рассматриваться как потенциально инфицированные. С ними следует обращаться с соответствующими предосторожностями и в строгом соответствии с правилами безопасности. Правила утилизации такие же, как для бытовых отходов.
- Калибраторы и контрольные плазмы делаются из человеческой крови и каждая индивидуальная плазма, включенная в процедуру является HBSAg, HIV 1/2 Ab и HCV-Ab-отрицательной (см. наклейки на флаконах). Однако, со всеми продуктами человеческой крови следует обращаться как с потенциально инфицированным материалом.
- Останавливающий раствор может раздражать кожу. Если кислота попадет в глаза, немедленно промойте водой и обратитесь к врачу.
- Реагенты иногда содержат консерванты (мертиолат). Остерегайтесь заглатывания! Избегайте контакта со слизистыми оболочками!

### СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Срок годности, указанный на наклейке, применим к не вскрытым флаконам при + 2...8 °С. Стабильность после растворения/вскрытия:

Материал/Реагент	Состояние	Хранение	Стабильность
Калибраторы, Контр.плазмы	После растворения	-20 °С	6 месяцев
ИФА тест-стрипы	После вскрытия	2 - 8 °С с клейкой пленкой в пластиковом пакете с осушителем	До срока годности
Конц.промыв.буф.	После вскрытия	2 ... 8°С	6 месяцев
Промыв. буфер	1+11,5 развед.конц.	2 ... 8 °С	3 недели
Инкубационный буфер (=буфер для разведения проб)	После вскрытия	2 ... 8 °С	2 месяца
Конъюгат	После вскрытия	2 ... 8 °С	6 месяцев
	Рабочий раствор	Комнатная температура	60 минут
Хромогенный субстрат ТМВ	После вскрытия	2 ... 8 °С	До срока годности

### ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

#### ПОДГОТОВКА ПРОБ

Материал проб: человеческая плазма с цитратом. Пробы могут храниться 3 часа при комнатной температуре. При -20°С они могут храниться несколько месяцев. Пробы не могут быть заморожены и разморожены несколько раз.

#### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

- Перед началом тестирования все требуемые компоненты должны быть доведены до комнатной температуры.
- Подготовка промывочного буфера: Разбавьте 1 объем концентрата промывочного буфера 11,5 объемами дистиллированной воды (1+11,5). Хорошо перемешайте! (Разбавленный концентрат промывочного буфера=промывочный буфер). Может быть кристаллический осадок, который растворится при 37°С в течение 10 минут.
- Растворы калибраторов и контрольных плазм: Калибраторы и контрольные плазмы растворяются в **500 мкл** дистиллированной воды, перемешиваются в течение 10 секунд и выдерживаются 15 минут. Растворенные компоненты от прозрачных до слегка мутных.  
**Не требуется разводить калибраторы и контроли!**
- Пробы используются неразведенными
- Подготовка рабочего раствора конъюгата (1+50): Разбавьте 1 объем конъюгата 50 объемами инкубационного буфера.

**Для 8 тест-лунок: Смешайте 10 мкл конъюгата с 500 мкл инкубационного (= для разведения проб) буфера**

### ВЫПОЛНЕНИЕ ТЕСТА

<b>ИНКУБАЦИЯ ПРОБ</b> (ссылки 1,2)	Пипетируйте калибраторы, контрольные плазмы, пробы в тест-лунок; закройте пленкой	<b>50 мкл</b>
<b>ПРОМЫВКА</b> (ссылки 1,3,4)	Инкубируйте при <b>комнатной температуре</b>	<b>120 минут</b>
<b>РЕАКЦИЯ С КОНЪЮГАТОМ</b> (ссылки 1,2)	Пипетируйте <b>рабочий раствор конъюгата</b> в тест-лунок; закройте пленкой	<b>50 мкл</b>
	Инкубируйте при <b>комнатной температуре</b>	<b>60 minutes</b>
<b>ПРОМЫВКА</b> (ссылки 1,3,4)	Промывочный буфер	<b>4 x 250 мкл</b>
<b>РЕАКЦИЯ С СУБСТРАТОМ</b> (ссылки 1,2)	Пипетируйте <b>Раствор субстрата</b> в тест-лунок; закройте пленкой	<b>50 мкл</b>
	Инкубируйте при <b>комнатной температуре</b>	<b>15 minutes</b>
<b>ОСТАНОВКА</b> (ссылки 1,2)	Пипетируйте <b>останавливающий раствор</b> в лунки	<b>50 мкл</b>
<b>ИЗМЕРЕНИЕ</b> (ссылка 5)	ИФА-ридер, <b>450 нм</b>	встряхните 10 сек., измерьте в течение 10 мин.

#### СЫЛКИ

- Реагенты разных лотов не должны комбинироваться
- Точность и другие метрологические характеристики существенно зависят от следующих факторов:
  - Тщательно перемешайте все вещества, используемые для разведения, 10 секунд на вортексе.
  - Тестируйте калибраторы, контроли и пробы в дублях
  - Инкубируйте при указанной температуре (комнатная температура 20 – 25 °С)
  - Строго соблюдайте порядок пипетирования и указанное время этапов
  - Время инкубации проб, конъюгата и субстрата начинается с момента пипетирования в последнюю лунку. Время инкубации не может варьироваться более чем ± 5 %.
  - Во время инкубации проб и реакции конъюгатом время пипетирования калибраторов, контролей, проб и раствора конъюгата не должно превышать 60 секунд на один стрип (8 лунок).
  - Во время реакции с субстратом и остановки, время необходимое для пипетирования субстрата и стоп-раствора не должно превышать 10 секунд на стрип. Время пипетирования может сокращаться, если использовать многоканальные пипетки, или диспенсеры.
- Помешайте стрипы водостойким карандашом на سطح их выпадения при тестировании.
- После последней промывки жидкость из лунок должна быть тщательно аспирирована, плашку необходимо перевернуть лунками вниз, поместить на фильтровальную бумагу, осторожно постучать перевернутой плашкой по бумаге, чтобы удалить оставшуюся жидкость.
- Бихроматическое считывание при длинах волн 450 нм (основная) и 620 нм (вспомогательная) увеличивает точность определений.
- Калибровочная кривая должна строиться при каждом исследовании.

### ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

Нельзя исключить, что определенные формы ADAMTS-13 (с мутацией в домене CUB) не эквивалентно измеряются вследствие пониженной связываемости с антителами, прикрепленными к плашке. Сообщалось, что тромбин разрушает ADAMTS-13. Поэтому, проб сыворотки следует избегать.

### РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗОВ

#### РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

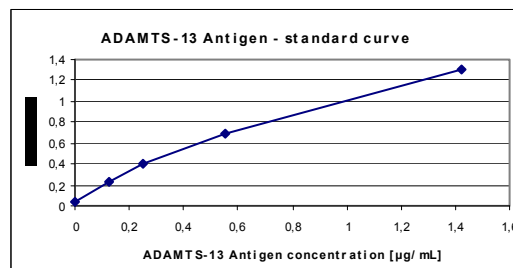
**Построение калибровочной кривой:** Ось X: концентрация антигена ADAMTS-13 (мкг/мл)  
Ось Y – оптическая плотность при 450 нм

График строится на осях линейная – линейная с аппроксимацией от точки к точке.

#### Оценка калибровочной кривой

- Оптическая плотность самого высокого калибратора должна быть между 1,0 и 2,5.
- Оптическая плотность самого низкого калибратора должна быть менее 0,15.
- Разница оптических плотностей между этими двумя величинами должна быть не менее 1,0.
- Правильность проведения теста проверяется на основании рассчитанных контрольных значений.

#### Пример стандартной кривой.



#### Измерение концентрации проб

Считайте концентрацию с калибровочной кривой. Если есть пробы с оптической плотностью выше верхней точки калибраторов, их следует разбавить инкубационным буфером (1 + 1, или 1 + 3). Измеренная концентрация затем должна умножаться на фактор разведения 2 или 4 соответственно.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ / ДИАПАЗОН ОРМЫ

Диапазон нормы для концентрации антигена ADAMTS-13: 0,60 – 1,60 мкг/мл (n=159). Диапазон нормы может варьировать в зависимости от локальной популяции. Рекомендуется индивидуальным лабораториям устанавливать свои собственные нормы. При интерпретации серо логических результатов истории пациентов также должны быть приняты во внимание.

### СТАНДАРТИЗАЦИЯ

Стандарты и контроли производятся из плазмы нормальных доноров. Они калибруются по очищенному рекомбинантному белку ADAMTS13 разбавленному плазмой, обедненной ADAMTS13.

### ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ

Данные приведены ниже. Результаты, полученные в индивидуальных лабораториях, могут отличаться.

### ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

Воспроизводимость определялась с различными пробами (в серии и изо дня в день). Были получены следующие результаты:

образец	воспроизводимость внутри серии		воспроизводимость между сериями	
	образец 1	образец 2	образец 3	образец 4
N	96	40	8	8
среднее (мкг/мл)	1.3	0.72	0.72	0.15
SD (мкг/мл)	3.8	0.04	0.05	0.01
CV (%)	3.6	5.2	6.8	7.2

**ДИАПАЗОН ИЗМЕРЯЕМЫХ ЗНАЧЕНИЙ** 0 µg/mL – 1,5 µg/mL  
**ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ** 0,02 µg/mL

### КОРРЕЛЯЦИЯ

Корреляция с флуоресцентным методом Technozym ADAMTS-13: для нормальных образцов r<sup>2</sup> = 0,9, для ТТП образцов r<sup>2</sup> = 0,91.

### ЛИТЕРАТУРА

- Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Hematol. 2004 407-423
- Majerus EM, Anderson PJ, Sadler JE. Binding of ADAMTS13 to von Willebrand factor. J Biol Chem. 2005 Jun 10;280(23):21773-8.
- Sadler JE. A new name in thrombosis, ADAMTS13. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99: 11552-11554.
- Dong JF, Moake JL, Molasco L et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. Blood. 2002 Dec 1, 100(12):4033-9
- Fontana S, Hovinga JA, Stundt JD, Alberio L, Lammle B et al. Plasma therapy in thrombotic thrombocytopenic purpura: review of the literature and the Bern experience in a subgroup of patients with severe acquired ADAMTS-13 deficiency. Semin Hematol. 2004 Jan, 41(1):48-59