

НАБОР ИФА
ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО СКРИНИНГА
АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К АНТИЯДЕРНОМУ
ФАКТОРУ

ORG 200, ANA Detect

Каталог. № : **ORG 200**
Количество : **96**
Производитель: **Orgentec (Германия)**

Методика от **08-2012**



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный набор основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для качественного скрининга аутоантител класса IgG к SS-A-52 (Ro-52), SS-A-60 (Ro-60), SS-B (La), RNP/Sm, RNP-70, RNP-A, RNP-C, Sm-BB, Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl-70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомам, моноклеосомам, комплексу гистонов, гистону H1, гистону H2A, гистону H2B, гистону 3, гистону H4, Pm-Scl-100 и центромеру В в сыворотке или плазме человека. Метод предназначен только для *in vitro* диагностики.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ (См. оригинал инструкции на англ. языке).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ Alegria® включает в себя 8-милуночные микрополоски со штрих-кодами, которые называются Alegria® Тест-полосками. Каждая полоска предназначена для анализа одного образца пациента. Набор состоит из полного комплекта реагентов. Сюда включены конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и специфический тестовый контроль. Кроме того, каждая полоска имеет две лунки, покрытые антигеном, которые служат в качестве реакционных лунок для контроля и образца пациента.

Определение основано на непрямо-ферментно-связанной иммунной реакции со следующими стадиями: Антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух реакционных лунок, образуя комплекс антиген-антитело. После инкубации, на первом этапе промывки удаляются несвязанные и не специфически связанные молекулы.

Последовательно добавленный ферментный конъюгат связывается с иммобилизованным комплексом антитело-антиген. После инкубации во время второй промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизации и развитию цвета во время инкубации. Интенсивность синего цвета соответствует концентрации комплекса антитело-антиген и может быть измерена фотометрически при 650 нм.

Данный тест основан на запатентованной SMC®-технологии (Sensotronic Memorized Calibration): информация об анализе, анализ и его оценка, а также срок годности для конкретной партии срока годности содержатся на штрих-коде, указанном на каждой Alegria тест-полоске®.

Тест-полоски Alegria® можно использовать с диагностическим инструментом Alegria® - полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью SMC®-Технологии данные, закодированные на штрих-коде, передаются от тест-полоски Alegria® к прибору и анализ автоматически обрабатывается и оценивается. Прибор считывает дату срока годности и отвергает дальнейшую обработку, если вышел срок годности тест-полоски Alegria®.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

- Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
- Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту В и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами сыворотки следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.

- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и найден отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5,5'-Тетраметилбензидином).
- Системная жидкость содержит кислоту, классификация - не является опасной. Избегать контакта с кожей.
- Контроль, буфер для образцов и промывочный буфер содержат азид натрия 0,09% в качестве консерванта. Эта концентрация классифицируется как неопасная.
- Ферментный конъюгат содержит ProClin 300 0.05% в качестве консерванта. Эта концентрация классифицируется как неопасная.

Во время работы с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдать существующие правила лабораторной безопасности и надлежащей лабораторной практики:

- Меры первой помощи: при попадании на кожу, немедленно тщательно промыть водой с мылом. Снять загрязненную одежду и обувь и выстирать ее перед использованием. Если системная жидкость соприкасается с кожей, тщательно промойте водой. После контакта с глазами тщательно промойте глаза с приоткрытыми веками проточной водой в течение не менее 10 минут. Обратитесь к врачу, если это необходимо.
- Меры личной безопасности, защитное снаряжение и чрезвычайные меры:

Соблюдать правила безопасности лабораторий. Избегать контакта с кожей и глазами. Не глотать. Не пипетировать ртом. Не есть, не пить, не курить, не наносить макияж в местах работы с реагентами. При пролипании вытереть инертным материалом и выбросить в соответствующую емкость для утилизации отходов.

- Средства индивидуальной защиты: Использовать защитные перчатки из нитрил каучука или натурального латекса.

Пользуйтесь защитными очками.

- Неблагоприятные условия: Так как раствор субстрата является светочувствительным, хранить Alegria® полоски в темноте.
- При утилизации лабораторных отходов национальное или региональное законодательство должно соблюдаться.

Соблюдайте рекомендации по обеспечению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и/или объединенных сывороток.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ORG 200-24	Достаточно для проведения 24 анализов
ORG 200-12	Достаточно для проведения 12 анализов
Тестовые полоски Alegria	Тест-полоски Alegria® являются модулями по 8 лунок каждая, состоящие из:
Лунки 1+2:	Пустые и без нанесения (лунки для разбавления образцов)
Лунки 3+4:	Покрыты антигеном (реакционные лунки)
Лунка 5:	Контроль; желтого цвета; содержит специфические антитела, PBS, БСА, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%.
Лунка 6:	Ферментный конъюгат; светло-красный; содержит анти-человеческие IgG антитела, меченные HRP; PBS, BSA, моющее средство, консервант Проклина 0,05%.
Лунка 7:	Буфер для разведения образцов: желтый; содержащий PBS, BSA, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%.
Лунка 8:	ТМБ субстрат: прозрачный; содержащий 3,3', 5,5' - Тетраметилбензидин. Смесь высокоочищенных антигенов SS-A-52 (Ro-52), SS-A-60 (Ro-60), SS-B (La), RNP/Sm, RNP-70, RNP-A, RNP-C, Sm-BB, Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl-70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосом, моноклеосом, комплекса гистонов, гистона H1, гистона H2A, гистона H2B, гистона 3, гистона H4, Pm-Scl-100 и центромера В привита в лунки. Код продукта на штрих-коде ANA Detect
1 x 20 мл	Промывочный буфер, содержащий Трис, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%; 50 x концентрат
1 x 2.5 мл	Системная жидкость, содержит кислоту; 1000 x концентрат
1	Инструкция по применению: Alegria® Mini-CD
1	Свидетельство о проведенном анализе

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тестовый набор при 2-8 °C в темноте.
- Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски запечатанными и с влагопоглотителем в пакете, который поставляется.
- Срок хранения нераспечатанного набора составляет 15 месяцев с даты производства.

Закрытые реагенты стабильны до истечения срока годности. Смотреть этикетки для отдельной партии.

- Разведенный Промывочный буфер и системная жидкость стабильны в течение по крайней мере 30 дней при хранении при температуре 2-8 °С. После передачи в контейнер реагента, мы рекомендуем использовать его в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- ✓ Вихревой миксер
- ✓ Пипетки на 10 мкл
- ✓ Дистиллированная или неионизированная вода
- ✓ Мерный цилиндр на 1000 и 2500 мл

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемую медицинскую технологию, избегая гемолиза.
- Дайте возможность крови сгуститься и отделите сыворотку центрифугированием.
- Сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Необходимо избегать гемолитической или липемической сыворотки.
- Образцы должны храниться при 2-8°С до 5 дней или при -20°С до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к потере активности аутоантителами.
- Не рекомендуется тестирование инактивированной жарой сыворотки.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты набора после окончания срока пригодности.
- Все материалы следует привести к комнатной температуре.
- Для предотвращения загрязнения меняйте наконечники между образцами и разными контролями набора.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Промывочный буфер

Разбавьте Концентрат Промывочного Буфера (50X) с 5-кратным концентратом буфера образцов дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Внести разбавленный промывочный буфер в контейнер для реагента инструмента. Если только один анализ в день будет проводиться, мы рекомендуем вносить только 500 мл разбавленного промывочного буфера.

Системная жидкость

Развести Концентрат системной жидкости (1000X) с дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл перед использованием. Перенести разбавленную системную жидкость в контейнер для реагента инструмента.

Тестовые полоски

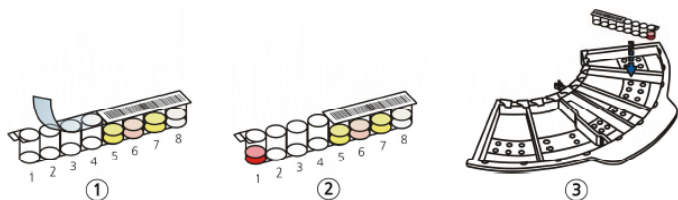
Достать необходимое количество тест-полосок из упаковки и привести их к комнатной температуре (20-28 °С). Не снимать покрытие с пустых скважин, пока вы не готовы начать анализ.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются с диагностическим инструментом Alegria®.

Подробную информацию о работе с прибором можно найти в Инструкции по применению.

- Снимите покрытие с пустых лунок 1-4 на тест-полосках Alegria®. **Не снимайте покрытие с лунок 5-8 с нанесенным на них штрих-кодом.**
- Пипетировать 10 мкл неразбавленной пробы пациента (сыворотка или плазма) в нижнюю часть лунки 1.
- Поместить полоску в SysTray. Поставить загруженный SysTraus в правильное положение в приборе Alegria® и начать работу. Все дальнейшие шаги будут сделаны автоматически. Пробный пуск завершен, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Система анализа калируется против международно признанной контрольной сыворотки от CDC, Атланта, США и, кроме того, против эталонного препарата ВОЗ Wo/80 для человеческого анти-двухцепочечного ДНК.

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью SMC® Технологии все тестовые данные передаются в систему через отдельные штрих-коды на тест-полосках. Расчет и интерпретация результатов будут выполняться автоматически.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для качественных результатов автоматически рассчитывается "Значение индекса" (Индекс) путем деления OD образца на OD внешнего контроля cut-off.

Ожидаемые результаты

В нормальном исследовании с использованием образцов от здоровых доноров крови следующие диапазоны были получены с данным анализом: Пороговое значение Индекс 1.0

Интерпретация результатов

Отрицательный: Индекс < 1.0
 Пограничный: Индекс 1.0-1.2
 Положительный: Индекс > 1.2

Линейность

Три образца пациента, содержащие высокие уровни специфических антител, серийно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа. Активность для каждого разведения была рассчитана с помощью SMC® Technology.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение
		Индекс	Индекс	П/О %
1	1:100	5.6	5.6	100
	1:200	3.0	2.8	107
	1:400	1.6	1.4	111
	1:800	0.8	0.7	109
2	1:100	4.9	4.9	100
	1:200	2.3	2.5	94
	1:400	1.1	1.2	90
	1:800	0.6	0.6	98
3	1:100	4.6	4.6	100
	1:200	2.1	2.3	91
	1:400	1.3	1.2	110
	1:800	0.7	0.6	113

Воспроизводимость

Точность Внутрисерийная: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов из результатов 24 определений в одном анализе. Результаты приведены в таблице ниже.

Точность Межсерийная: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов из результатов 6 определений в 5 различных анализах. Результаты приведены в таблице ниже.

Intra-Assay		
Sample	Mean [Index]	CV [%]
1	1.0	2.8
2	1.5	2.9
3	2.5	2.7

Inter-Assay		
Sample	Mean [Index]	CV [%]
1	1.0	3.6
2	1.6	5.5
3	2.7	9.4

Интерферирующие вещества

Никакого вмешательства не наблюдалось с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (триглицеридов до 3 г/дл) сыворотками или плазмами или билирубином (до 40 мг/дл), содержащим сыворотку или плазму. Также никакие интерферирующие эффекты не наблюдались с использованием антикоагулянтов (цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать использования сильно гемолизированных или липемических образцов.

Результаты исследований

<u>Study population</u>	<u>n</u>	<u>n pos</u>	<u>%</u>
SLE	63	62	98.4
Sjogren's Syndrome	2	2	100.0
MCTD	9	9	100.0
Poly- Dermatomyositis	8	8	100.0
Scleroderma	3	3	100.0
CREST	9	9	100.0
Normal human sera	148	3	2.0

		Clinical Diagnosis		
		Pos	Neg	
ORG 200	Pos	93	3	
ANA Detect	Neg	1	145	
		94	148	242
Sensitivity:	98.9	%		
Specificity:	98.0	%		
Overall agreement:	98.3	%		

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, но должен быть сделан врачом после всех клинических и лабораторных исследований, проведенных в отношении всей клинической картины пациента. Также каждое решение для терапии следует принимать в индивидуальном порядке.

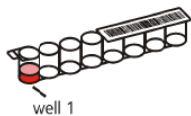
Указанные выше патологические и нормальные значения, характерные для антител в образцах пациента, следует использовать только в качестве рекомендаций. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ИСО 15189 или других применимых лабораторных принципов.

1 Удалить пленку с пустых лунок тестовой полоски.

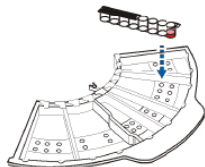


2 Пипетировать 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

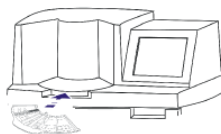
Исключение: в случае проведения теста Anti-GBM (ORG 250) пипетировать 20 мкл неразбавленного образца!



3 Поместить тестовую полоску в SysTray.



4 Загрузить инструмент, соблюдая правильность позиций SysTray (SysTray A в позиции A, SysTray B в позиции B, SysTray C в позиции C).



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com