

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ КЛАССА IgM К КАРДИОЛИПИНУ, ФОСФАТИДИЛСЕРИНУ, ФОСФАТИДИЛИНОЗИТУ, ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЕ И $\beta$ -2-ГЛИКОПРОТЕИНУ I

### ORG 229M, Anti-Phospholipid Screen IgM

Каталог. № : **ORG 229M**  
Количество : **96**  
Производитель: **ORGENTEC GmbH,**  
(Германия)

Методика от **07-2012**



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 количественного измерения аутоантител класса IgM к Кардиолипину, Фосфатидилсерину, Фосфатидилинозиту, Фосфатидной кислоте и  $\beta$ -2-Гликопротеину I 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 непрямой 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 гидролизу 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

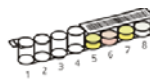
1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту В и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого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

3. Избегайте контакта с ТМБ (3,3',5,5'- тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
4. Стоп раствор содержит соляную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
5. Некоторые компоненты набора (напр. Контроли, буфер образцов и буферный моющий раствор) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия является высоко токсичным и реактивным в чистой форме. При концентрации в продукте, тем не менее, не опасен. Вопреки классификации как неопасный, мы настоятельно рекомендуем использовать обычные правила безопасности.
6. Некоторые наборы содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При уничтожении реагентов, содержащих проклин 300, промойте большим количеством воды для разбавления компонентов до ниже активного уровня.
7. Используйте перчатки при работе с образцами и реагентами и тщательно мойте руки после работы.
8. Не пипетируйте ртом.
9. Не ешьте, не пейте, не курите или не применяйте косметику в местах работы с образцами или реагентами набора.
10. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами: повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Следуйте указаниям для проведения контроля качества в мед. Лаборатории тестированием контролей и/или объединенной сыворотки. Во время обращения с реагентами набора, контролями и сывороткой следуйте правилам безопасности.

#### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ORG 229M-24	Достаточно для проведения 24 анализов
ORG 229M-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 (лунок для разбавления образцов)

Лунки 3+4: Покрыты антигеном (реакционные лунки)  
Лунка 5: **Контроль;** желтого цвета; содержит специфические антитела, PBS, BSA, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%.

Лунка 6: **Ферментный конъюгат;** светло-красный; содержит анти-человеческие IgM 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 кардиолипина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозита, Фосфатидной кислоты и человеческого  $\beta$ -2-гликопротеина I, нанесенных в лунки.

Код продукта на штрих-коде **PL Screen IgM**

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 °C. 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

1. Соберите образцы цельной крови, используя приемлемую медицинскую технологию, избегая гемолиза.

2. Дайте возможность крови стечь и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Необходимо избегать гемолитической или липемической сыворотки.
4. Образцы должны храниться при 2-8°C до 5 дней или при -20°C до шести месяцев.
5. Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к потере активности аутоантителами.
6. Не рекомендуется тестирование инактивированной жарой сыворотки.

#### ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

1. Не используйте компоненты набора после окончания срока пригодности.
2. Все материалы следует привести к комнатной температуре.
3. 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 100 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 °C). 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.

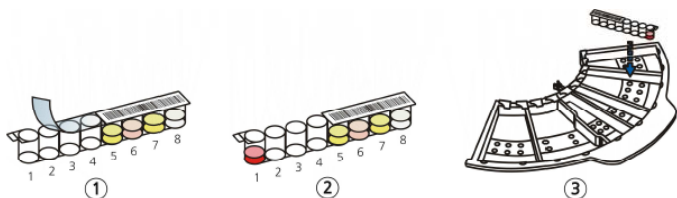
- 1) Снимите покрытие с пустых лунок 1- 4 на тест-полосках Alegria®.

**Не снимайте покрытие с лунок 5-8 с нанесенным на них штрих-кодом.**

- 2) Пипетировать 10 мкл неразбавленной пробы пациента (сыворотка или плазма) в нижнюю часть лунки 1.

- 3) Поместить полоску в SysTray. Поставить загруженный SysTrays в правильное положение в приборе Alegria® и начать работу. Все дальнейшие шаги будут сделаны автоматически.

Пробный пуск завершен, когда прибор начинает печатать результаты.



#### КАЛИБРОВКА

Калибровка проводится с использованием международно признанной контрольной сыворотки от EN Харрис, Луисвилл, IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

#### 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

##### Диапазон измерения

Расчетный диапазон этого анализа составляет 0 - 100 MPL - Ед/мл.

#### Ожидаемые результаты

В нормальном исследовании с использованием образцов от здоровых доноров крови следующие диапазоны были получены с данным анализом: Пороговое значение 10 MPL – Ед/мл

#### Интерпретация результатов

Нормальный: < 10 MPL – Ед/мл

Повышенные: ≥ 10 MPL – Ед/мл

#### 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
		MPL – Ед/мл	MPL – Ед/мл	П/О %
1	1:100	94.6	94.6	100
	1:200	45.6	47.3	96
	1:400	22.3	23.7	94
2	1:800	12.3	11.8	104
	1:100	82.6	82.6	100
	1:200	43.0	41.3	104
3	1:400	19.5	20.7	94
	1:800	9.9	10.3	96
	1:100	62.3	62.3	100
	1:200	32.1	31.2	103
	1:400	15.2	15.6	98
	1:800	7.5	7.8	96

#### Чувствительность

Функциональная чувствительность была определена как: 0.5 MPL – Ед/мл.

#### 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	CV
	[MPL-U/ml]	[%]
1	16.4	0.9
2	31.2	2.3
3	65.6	6.7

Inter-Assay		
Sample	Mean	CV
	[MPL-U/ml]	[%]
1	15.8	3.6
2	29.6	6.0
3	69.9	9.0

#### 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

Study population	n	n pos	%
Primary APS	8	5	62.5
Secondary APS	65	30	46.2
Normal human sera	150	5	3.3

		Clinical Diagnosis		
		Pos	Neg	
ORG 229M	Pos	35	5	223
Anti-Phospholipid Screen IgM	Neg	38	145	
		73	150	
Sensitivity:		47.9	%	
Specificity:		96.7	%	
Overall agreement:		80.7	%	

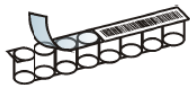
#### ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

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.

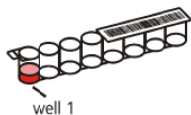
Указанные выше патологические и нормальные значения, характерные для антител в образцах пациента, следует использовать только в качестве рекомендаций. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ИСО 15189 или других применимых лабораторных принципов.

**1** Удалить пленку с пустых лунок тестовой полоски.

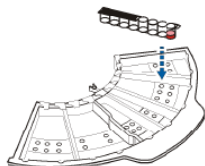


**2** Пипетировать 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

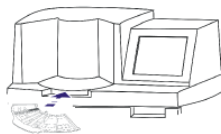
**Исключение:** в случае проведения теста Anti-GBM (ORG 250) пипетировать 20 мкл неразбавленного образца!



**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.Черновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
е-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)