

**НАБОР ИФА**  
**ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ**  
**АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К ИЗВЛЕКАЕМЫМ**  
**ЯДЕРНЫМ АНТИГЕНАМ (ENA)**

**ORG 506, ENA Screen**

Каталог. № : **ORG 506**

Методика от **08-2012**

Количество : **96**

Производитель: **Orgentec (Германия)**



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

**НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

ENA Screen является тест-системой ИФА для качественного скрининга аутоантител класса IgG к извлекаемым ядерным антигенам (ENA) в сыворотке или плазме человека. Этот продукт предназначен только для профессионального использования в in-Vitro диагностике.

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ** (См. Оригинал инструкции).

**ПРИНЦИП МЕТОДА**

Смесь очищенных антигенов SS-A 60, SS-A 52, SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl 70 и Jo-1 нанесена в лунки.

Антитела к нанесенным антигенам, если они присутствуют в разбавленной пробе пациента, связываются с соответствующим антигеном. Промывание лунок удаляет несвязанные неспецифические компоненты сыворотки и плазмы. Анти-человеческие антитела, конъюгированные Пероксидазой хрена (HRP), иммунологически обнаруживают связанные антитела пациента, формируя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Промывание лунок удаляет несвязанный конъюгат Ферментный субстрат в присутствии связанного конъюгата гидролизует с образованием синей окраски. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтый конечный продукт. Интенсивность этого желтого цвета измеряется фотометрически при 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации антител, присутствующих в исходном образце.

**ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

<b>Формат набора</b>	<b>96 тестов</b>
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый. Готов к использованию.	1
Контроли А, В, С (Отрицательный, Cut-Off и Положительный), содержащие ENA антитела в основе сыворотки/буфера (PBS, BSA, NaN <sub>3</sub> <0.1% (w/w)), желтого цвета. Готовы к использованию.	3 флакона 1.5 мл каждый
Буфер для образцов Р, содержит PBS, BSA, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 х).	1 флакон 15 мл
Раствор ферментного конъюгата (светло-красный), содержащий античеловеческие антитела IgG, меченые пероксидазой хрена; содержит PBS, BSA, детергент, консервант Проклин. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ, бесцветный. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор, содержит кислоту. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, концентрат (50х)	1 флакон 20 мл
Инструкция по применению	1 шт.
Сертификат контроля качества	1 шт.

**ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм; опционно: контрольный фильтр с длиной волны 620 нм
- Программное обеспечение для ридера
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объемом 100 мкл
- Вortexный миксер

- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
  - Таймер
  - Дистиллированная или деионизированная вода
  - Мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
  - Пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора
- Наборы ORGENTEC ИФА являются подходящими для использования на открытых автоматизированных процессорах. Каждый анализ должен быть оценен на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

**СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ**

1. Соберите образцы цельной крови, используя приемлемую медицинскую технологию, избегая гемолиза.
2. Дайте возможность крови сгуститься и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Необходимо избегать гемолитической или липемической сыворотки.
4. Образцы должны храниться при 2-8<sup>o</sup>C до 5 дней или при -20<sup>o</sup>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.

**ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ**

1. Хранить набор при 2 - 8 °C
2. Держать микропланшетные лунки в герметичном мешочке с осушителем.
3. реагенты стабильны до окончания срока годности набора.
4. Не поддавать реагенты для анализа воздействию тепла, солнца или сильного света в течении хранения и использования.
5. Разбавленный буфер образца и промывочный буфер стабильны по крайней мере 30 дней при 2 - 8 °C.

**ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ**

1. Не используйте компоненты набора после окончания срока пригодности.
2. Не меняйте компоненты набора между разными лотами.
3. Все материалы следует привести к комнатной температуре.
4. Все реагенты при начале анализа должны быть готовы к работе. После начала анализ необходимо проводить непрерывно для получения надежных и точных результатов.
5. Проводите все шаги анализа в указанном порядке.
6. Всегда используйте свежую разбавленную сыворотку.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8. Для предотвращения загрязнения меняйте наконечники между образцами и разными контролями набора.
9. Очень важно промывать ячейки тщательно и удалять полностью всю жидкость для получения оптимальных результатов.
10. Все шаги инкубации должны проводиться определенное время.
11. Контрольная сыворотка должна анализироваться как неизвестная для проверки реагентов и анализа.
12. Не используйте повторно ячейки микропланшета.

**ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ**

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции. Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
3. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке.
4. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов. Необходимо контролировать сроки годности, проставленные на этикетках коробок и флаконов. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
5. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры перед использованием и хорошо перемешайте их.
6. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила. При обращении с потенциально инфекционно опасными материалами должны выполняться следующие предосторожности:
  - в помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
  - не отбирайте образцы ртом

- при обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
7. 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 крови следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
  8. Избегайте контакта с ТМБ (3,3',5,5'-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
  9. Стоп-раствор содержит соляную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
  10. Некоторые компоненты содержат азид натрия как консервант. Азид натрия в чистом виде является высокотоксичным и высокореактивным, но при концентрации в продукте (0,09%) не является опасным. Тем не менее, соблюдайте правила хорошей лабораторной практики.
  11. Некоторые компоненты содержат Проклин 300 как консервант. При утилизации компонентов, содержащих Проклин 300 предварительно разведите их большим количеством воды до концентраций ниже активных.
  12. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

### Приготовление промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием.

### Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона (x5) буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием.

### Приготовление образца

Разбавьте образцы пациентов 1:100 буфером для образцов перед анализом. Для этого добавьте до 10 мкл образца 990 мкл буфера для образца в пробирке из полистирола. Тщательно перемешайте. Примечание: Калибраторы/Контроли готовы к использованию, их не нужно разбавлять.

## ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Приготовьте достаточное количество стрипов для контролей/калибраторов и проб пациентов.

1. Добавьте **100 мкл** калибраторов, контролей и разбавленных образцов пациентов в каждую ячейку.  
Инкубируйте **30 минут** при комн. температуре (20 - 28 °C).  
Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.  
Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.  
Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.  
Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
4. Добавьте **100 мкл** стоп раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.  
Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Бихроматическое измерение проводите при 600-690 нм.  
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Пример пипетирования:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A											
B	B											
C	C											
D	P1											
E	P2											
F	P3											
G												
H												

P1, .... – образцы пациентов, A – C – контроли

## ОЦЕНКА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм для Калибраторов/Контролей и результатов контролей совпадает с соответствующим диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, прилагаемом к набору. Если какой-либо из указанных критериев не соответствует, результаты должны быть признаны недействительными и тестирование должно быть повторено.

## РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для качественных результатов оптическую плотность (OD) образца сравнивают с оптической плотностью Контроля B:

Отрицательный: OD образца < OD Контроля B  
Положительный: OD образца ≥ OD Контроля B

Для более точных результатов оптическая плотность образца выражается как значение индекса:

Индекс = OD образца/OD Контроля B

## РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Калибровка

Система анализа калибруется против международно признанной контрольной сыворотки от CDC, Атланта США.

### Диапазон измерения

Не применяется.

### Ожидаемые значения

В нормальном диапазоне исследования с образцами от здоровых доноров крови следующие диапазоны были установлены с этим анализом ИФА: Пороговое значение Индекс 1.0

### Интерпретация результатов

Отрицательный: Индекс < 1.0  
Положительный: Индекс ≥ 1.0

### Линейность

Образцы пациентов, содержащих высокие уровни специфических антител, серийно разводили в буфере для образца, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа. Активность для каждого разведения была рассчитана как значение Индекса.

Образец	Разведение	Полученное значение Индекса	Ожидаемое значение Индекса	П/О, %
1	1:100	5.4	5.4	100
	1:200	2.9	2.7	107
	1:400	1.5	1.4	111
	1:800	0.7	0.7	104
2	1:1600	0.4	0.3	110
	1:100	6.3	6.3	100
	1:200	3.4	3.2	108
	1:400	1.4	1.6	91
	1:800	0.6	0.8	81
	1:1600	0.4	0.4	107

### Предел обнаружения

Не применяется.

### Воспроизводимость

Внутри тестовая точность: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов из результатов 24 определений в одном анализе. Результаты для точности в пределах анализа приведены в таблице ниже.

Межсерийная точность: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных анализах. Результаты для выполнения к запуску точности приведены в таблице ниже.

Внутри анализа		
Образец	Среднее Значение Индекса	CV [%]
1	0.2	6.0
2	1.0	2.2
3	2.2	1.6

Между анализами		
Образец	Среднее Значение Индекса	CV [%]
1	0.2	6.9
2	1.1	1.2
3	2.4	1.6

### Перекрестно реагирующие вещества

Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или повышенным содержанием билирубина (до 40 мг/дл). Не наблюдалось какого-либо влияния при использовании

антикоагулянтов. Однако, не рекомендуется использовать образцы с сильным гемолизом или липемией.

## Результаты исследований

Study population	n	n Pos	%
SLE	25	22	88.0
Sjogren's Syndrome	10	10	100.0
MCTD	10	10	100.0
Scleroderma	10	9	90.0
Normal human sera	60	2	3.3
RA (rheumatoid arthritis)	20	1	5.0

		Clinical Diagnosis		
		Pos	Neg	
ORG 506	Pos	1	3	135
	Neg	4	77	
		55	80	

Sensitivity: 92.7 %  
Specificity: 96.3 %  
Overall agreement: 94.8 %

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ предназначен в качестве диагностической помощи. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, он должен быть сделан врачом после всех оценки всех клинических и лабораторных исследований. Также каждое решение для терапии следует принимать индивидуально.

Выше указанные патологические и нормальные диапазоны для антител в образцах пациента следует рассматривать только в качестве рекомендаций. Каждая лаборатория должна установить свои собственные нормы, в соответствии с ISO 15189 или другие действующие правила лаборатории.

### СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. Добавить **100 мкл** калибратор, контроль или образец пациента
  - Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре
  - Удалить содержимое ячеек и **трижды** промыть **300 мкл** промывочного раствора
2. Добавить **100 мкл** раствора ферментного конъюгата
  - Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре
  - Удалить содержимое ячеек и **трижды** промыть **300 мкл** промывочного раствора
3. Добавить **100 мкл** раствора субстрата
  - Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре
4. Добавить **100 мкл** стоп раствора
  - Выдержать **5 минут**
  - Считать при 450 нм



### 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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)