

НАБОР ИФА

ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ КЛАССА IgG ПРОТИВ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ-ПОЧЕК ТИПА 1 (LKM-1)

ORG 253, Anti-LKM-1

Каталог. № : **ORG 253**

Методика от **07-2012**

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.

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Набор Анти-LKM-1 является тест-системой ИФА для количественного определения антител класса IgG против микросом печени-почек типа 1 (LKM-1) в образцах сыворотки или плазмы. Метод предназначен только для *in vitro* диагностики.

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

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ Alegria® включает в себя 8-миллюметровые 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 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 253	Достаточно для проведения 24 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, BSA, 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.
	Высокоочищенный рекомбинантный антиген белка микросом печени почек типа 1 (LKM-1) нанесены в лунки.
	Код продукта на штрих-коде LKM-1
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. Смотрите 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

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемую медицинскую технологию, избегая гемолиза.
- Дайте возможность крови стечь и отделите сыворотку центрифугированием.
- Сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Необходимо избегать гемолитической или липемической сыворотки.
- Образцы должны храниться при 2-8°C до 5 дней или при -20°C 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 (20-28 °C).
- 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

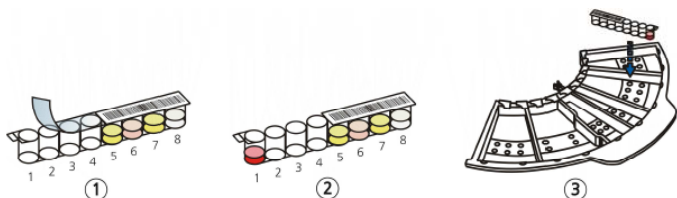
Достать необходимое количество тест-полосок из упаковки и привести их к комнатной температуре (20-28 °C). Не снимать покрытие с пустых скважин, пока вы не готовы начать анализ.

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

Это система анализа откалибрована в относительных условных единицах, так как никакой международный справочный препарат не доступен для данного анализа.

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 Ед/мл.

Ожидаемые значения

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

Интерпретация результатов

Нормальный: < 10 Ед/мл
Завышенный: ≥ 10 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
		Ед/мл	Ед/мл	П/О %
1	1:100	102.3	100.0	102
	1:200	53.9	50.0	108
	1:400	28.0	25.0	112
2	1:800	13.0	12.5	104
	1:100	107.2	100.0	107
	1:200	46.6	50.0	93
3	1:400	23.6	25.0	94
	1:800	12.9	12.5	103
	1:100	50.4	100.0	101
	1:200	23.8	50.0	95
	1:400	12.4	25.0	100
	1:800	6.3	12.5	101

Чувствительность

Функциональная чувствительность была определена как: 0.5 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
.	[U/ml]	[%]
1	12.7	2.1
2	23.3	2.8
3	51.1	5.3

Inter-Assay		
Sample	Mean	CV
.	[U/ml]	[%]
1	16.7	4.4
2	27.5	5.2
3	41.7	4.5

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	%
AiH	129	32	24.8
rheumatoid disorders	159	4	2.5
coeliac disease	83	0	0.0
normal human sera	90	1	1.1

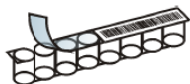
		Clinical Diagnosis AiH		
		Pus	Neg	
ORG 253	Pos	32	5	461
Anti-LKM-1	Neg	97	327	
.	.	129	332	
Clinical Sensitivity:	24.8	%		
Clinical Specificity:	98.5	%		
Clinical Agreement:	77.9	%		

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.

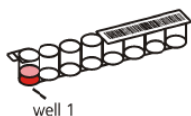
Указанные выше патологические и нормальные значения, характерные для антител в образцах пациента, следует использовать только в качестве рекомендаций. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ИСО 15189 или других применимых лабораторных принципов.

1 Удалить пленку с пустых лунок тестовой полоски.

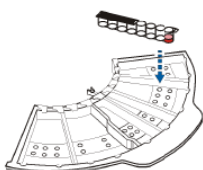


2 Пипетировать 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

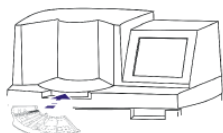
Исключение: в случае проведения теста Anti-LKM-1 (ORG 250) пипетировать 20 мкл неразбавленного образца!



3 Поместить тестовую полоску в SysTray.



4 Загрузить инструмент, соблюдая правильность позиций SysTray (SysTray A в позиции А, SysTray В в позиции В, SysTray С в позиции С).



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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