

**НАБОР ИФА  
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
АНТИТЕЛ КЛАССА  
Sm/RNP, Sm, Jo-1, Scl-70, SS-A, SS-B**

**2506-2, ENA Profile-6 Sm/RNP, Sm, Jo-1, Scl-70, SS-A,  
SS-B**

Каталог. № : 2506-2  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 01-01-2010



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

Анализ	ENA Profile ELISA
Метод	Твердофазный иммуноферментный анализ
Принцип	ИФА-непрямой, Планшет, покрытый антигеном
Диапазон обнаружения	Качественный – положительный, отрицательный и пороговый
Образец	10 мкл сыворотки
Специфичность	100%
Чувствительность	96%
Общее время	~60 мин
Срок годности	12 месяцев

**ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ**

Система анализа ENA Profile-6 ДАИ - полуколичественный иммунологический анализ для определения IgG антител к Jo-1, Sm, Sm/RNP, SSA(Ro), SSB(La) и Scl-70 в человеческих сыворотках. При проведении в соответствии с данными инструкциями, результаты данного профиля аутоантител могут помочь в диагностике и лечении нарушений в аутоиммунных соединительных тканях. Это устройство предназначено для диагностического использования *in vitro*.

**ЗНАЧЕНИЕ И ОПИСАНИЕ**

В последние годы стало ясно, что аутоантитела на ряду с ядерными составляющими оказываются полезными в диагностике различных болезней соединительной ткани. Аутоантитело Jo-1 - одно из семейства свойственных аутоантител, замеченных в пациентах с миозитом и все связаны с высокой случайностью сопутствующей внутритканевой болезни легких. Антитела, направленные против Sm маркера высоко специфически для пациентов с системной красной волчанкой (SLE) и рассматриваются как диагностический критерий SLE. Наличие высокого уровня отдельно взятых RNP антител считается диагностическим для смешанного заболевания соединительной ткани (MCTD) и обычно связывается с более мягким прохождением болезни, в то время как пациенты с низкими уровнями RNP антител, вместе с другими аутоантителами, могут наблюдаться в сыворотке пациентов с прогрессирующим системным склерозом, синдромом Шегрена, ревматоидным артритом. Присутствие RNP антител в сыворотке SLE пациентов обычно связывается с более низкими случаями проблем почек и более легким прохождением болезни. Наоборот, пациенты с Sm антителами подвергаются более частым осложнениям почек и центральной нервной системы. Аутоантитела, направленные против SSA и SSB могут наблюдаться в пациентах с SLE и болезнью Шегрена. SSA антитела часто присутствуют в сыворотке ANA отрицательных SLE пациентов, такой как подострая кожная красная волчанка, волчанко-подобный синдром, связанный с недостаточностью гомозиготного C2, и в подмножестве пациентов, в которых отсутствуют антитела против двухцепочечной ДНК. Scl-70 антитела высоко специфически для склеродермии. Они также наблюдаются в меньшей части в SLE пациентов. Scl-70 положительные пациенты к склеродермии имеют тенденцию к более серьезному протеканию болезни, большее влияние на внутренние органы и широкое распространение чем ограниченное влияние на кожу. Scl-70 антитела редко обнаруживаются при других аутоиммунных болезнях, и таким образом, их обнаружение в пациенте с недавним проявлением феноменом Рейнауда крайне важно.

Относительная частота этих аутоантител, связанных с SLE и другими болезнями соединительной ткани, взятых отдельно или как многочисленные аутоантитела, требует оценки профиля аутоантител сыворотки каждого пациента, чтобы получить самую высокую степень клинической достоверности в лабораторной обработке этих типов пациентов. До недавнего времени, аутоантитела анализировались индивидуально непрямой иммунофлуоресценцией, анализом гелевой диффузии по Оухтерлони, гемагглютинацией, радиоиммуноанализом или твердофазным иммуноферментным анализом (ELISA). Хотя точная этиология аутоиммунных болезней неизвестна, и специфическая роль аутоантител в начале различных аутоиммунных болезней соединительной ткани определена нечетко, зависимость и частота обнаружения этих антител, особенно таких как класса IgG с помощью системы анализа ENA Profile-6 ДАИ предлагает эффективную процедуру анализа для лабораторного применения на пациентах с различными болезнями соединительной ткани.

Следующая таблица подводит итог различных аутоантител отмеченных выше в зависимости от болезни:

Таблица 1

Антитело	Болезнь	Относительная частота обнаружения антитела %
Anti-Jo-1	Миозит	25-44% (19)
Anti-Sm	SLE	30*
Anti-RNP	MCTD, SLE	100** и >40, соответств.
Anti-SSA (Ro)	SLE, синдром Шегрена	15 и 30-40, соответств.
Anti-SSB (La)	SLE, синдром Шегрена	15 и 60-70, соответств.
Anti-Scl-70	Системный склероз	20-28*

\* Высоко специфичное

\*\* Высоко специф. при наличии в одиночку с высоким титром.

**ПРИНЦИП ТЕСТА**

Система анализа ENA Profile-6 ДАИ разработана для определения IgG антител к различным аутоантигенам в сыворотках человека. Полоски пластмассовых лунок сенсизируются пассивным поглощением иммобилизованными антигенами. Процедура анализа включает 3 инкубационных этапа:

1. Анализируемые сыворотки (должным образом разбавлены) инкубируются в микролунках, покрытых антигеном. Любое антиген специфическое антитело в образце связывается с зафиксированным антигеном. Для удаления несвязанного антитела и других компонентов сыворотки промывается планшет. В лунки добавляется конъюгированный пероксидазой козлийный анти-человеческий IgG (специфическая  $\gamma$  цепочка) и планшет инкубируется. Конъюгат взаимодействует с антителами, зафиксированными в твердой фазе этапа 1. Для удаления непрореагировавшего конъюгата промываются лунки.
2. Микролунки, содержащие зафиксированный конъюгат пероксидазы инкубируются с раствором субстрата пероксидазы. Гидролиз субстрата пероксидазой производит изменение цвета. После определенного периода времени реакция останавливается и фотометрически измеряется интенсивность цвета раствора. Интенсивность цвета раствора зависит от концентрации антитела в первоначальной пробе для анализа.

**ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

Каждый набор в достаточных количествах содержит следующие компоненты, необходимые для проведения количества анализов, указанных на этикетке упаковки. Замечание: Все активные реагенты содержат азид натрия как консервант в концентрации 0.1 % (масса/объем).

1. **Планшет** из 96 лунок, состоящий из двенадцати 1 x 8-луночных полосок, покрытых инактивированным антигеном. Каждый ряд планшета покрыт другим ядерным антителом (ENA). Полоски упакованы в штативе и загерметизированы в пакете с высушивающим средством.
2. **Конъюгат**. Конъюгированный пероксидазой козлийный анти-человеческий IgG (специфическая  $\gamma$ -цепочка). Готов к использованию. Один 15 мл флакон с белым колпачком.
3. **Положительный контроль** (человеческая сыворотка). Один 0.35 мл флакон с красным колпачком.
4. **Калибратор** (человеческая сыворотка). Два 1,0 мл флакона с красным винтовым колпачком (лиофилизированный). Содержит консервант.
5. **Отрицательный контроль** (человеческая сыворотка). Один 0.35 мл флакон с зеленым колпачком.
6. **Разбавитель образца**. Одна 30 мл бутылка (зеленая крышка), содержащая альбумин бычьей сыворотки, твин-20 и фосфат-буферизованный соляной раствор (pH 7.2 +/- 0.2). Готов к использованию. **ПРИМЕЧАНИЕ:** перед использованием

хорошо перемешать. (Продукт №2506-2z). ПРИМЕЧАНИЕ: Данный реагент можно использовать с любым набором ИФА DA1. В присутствии сыворотки разбавитель образца изменяет цвет.

7. **ТМВ:** Одна 15 мл янтарная бутылка (янтарная крышка), содержащая 3,3 ' , 5,5 '-тетраметилбензидин (ТМВ). Готов к использованию. Содержит DMSO < 15 % (w).
8. **Стоп раствор:** Одна 15 мл бутылка (красная крышка) содержащая 1М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,7М HCl. Готов к использованию.
9. **Концентрат промывочного буфера (10X):** Разбавьте 1 часть концентрата + 9 частей деионизированной или дистиллированной воды. Одна 100 мл бутылка (прозрачная крышка), содержащая 10x концентрат фосфат-буферизированного соляного раствора и раствор твин-20 (синий раствор). Примечание: 1X раствор имеет pH 7.2 +/- 0.2.

Следующие компоненты не зависят от номера партии набора и могут использоваться взаимозаменяемо в ИФА: ТМВ, стоп раствор и промывочный буфер.

#### Замечание: Набор также содержит:

1. Перечень компонентов, содержащий информацию по определенной партии, внутри упаковки набора.
2. Вкладыш упаковки с инструкциями по применению.

#### ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Микропланшетный считыватель для ИФА с длиной волны измерения 450 нм.
- Пипетки способные к точному распределению 10-200 мкл.
- Многоканальные пипетки для точного распределения (50-200 мкл).
- Емкости с реагентами для многоканальных пипеток.
- Промывочная бутылка или система промывки микролунок.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Мерный цилиндр на 1 л.
- Серологические пипетки
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Бумажные полотенца.
- Лабораторный таймер для мониторинга этапов инкубации.
- Ванночка для утилизации отходов и дезинфицирующее средство (пример: 10% бытовой отбеливатель, 0,5% гипохлорит натрия).

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

1. Хранить невскрытый набор при 2-8°C.
2. Предварительно покрытые микролуночные полоски: хранить при 2-8°C. Лишние полоски должны быть немедленно повторно запечатаны с высушивающим средством и возвращены для соответствующего хранения. Полоски устойчивы в течение 60 дней после того, как мешочек был открыт и должным образом вторично закрыт, и индикатор остается синим.
3. Конъюгат. Хранить при 2-8°C. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.
4. Положительный и отрицательный контроль: Хранить при 2-8°C.
5. Человеческий калибратор. Хранить при 2-8°C. После перерастворения стабилен в течении 30 дней при 2-8°C.
6. ТМВ. Хранить при 2-8°C.
7. Концентрат промывочного буфера (10X). Хранить при 2-25°C. Разбавленный промывочный буфер (1x) стабилен в течение 7 дней если хранить при комнатной температуре или 30 дней при 2-8°C.
8. Разбавитель образца. Хранить при 2-8°C.
9. Стоп раствор. Хранить при 2-25°C.

#### СБОР ОБРАЗЦОВ

1. Рекомендуется проводить забор образцов в соответствии с NCCLS документом M29: Защита сотрудников лабораторий от инфекционных болезней.
2. Ни один из известных методов не может обеспечить полную уверенность в том, что образцы человеческой крови не способны передавать инфекцию. Поэтому, все производные крови должны считаться потенциально инфекционными.
3. В этом анализе должны использоваться только недавно собранные и должным образом сохраненные сыворотки крови, полученные одобренными асептическими процедурами венопункции. Никакие антикоагулянты или консерванты не должны добавляться. Избегайте использования гемолизированных, липемических или бактериологически загрязненных сывороток.
4. Храните образец при комнатной температуре не более чем 8 часов. Если анализ не выполняется в пределах 8 часов, сыворотки могут храниться при 2-8°C не более чем 48 часов. Если ожидается задержка в анализе, храните сыворотки для анализа при -20°C или ниже. Избегайте циклов многократного

замораживания/размораживания, которые могут вызывать потерю активности антител и давать ошибочные результаты.

#### Подготовка реагентов:

1. Промывочный буфер: Разбавьте 100 мл 10X концентрата 900 мл дистиллированной или деионизированной воды. Тщательно перемешайте, чтобы растворить любые кристаллы, которые могут быть.
2. Человеческий калибратор: Перерастворите содержимое флакона 1.0 мл дистиллированной или деионизированной воды. После перерастворения калибратор готов к использованию. **Не разбавлять дополнительно перед использованием.** Хранить неиспользованный перерастворенный калибратор при 2-8°C не более чем 30 дней.
3. Разбавитель образца, конъюгат, раствор субстрата и стоп раствор готовы к использованию.

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

##### Подготовка к анализу

Извлеките отдельные компоненты набора из места хранения и позвольте им нагреться до комнатной температуры (20-25°C). Определите общее количество анализируемых образцов и контролей. Для каждого образца потребуется одна полоска 1x8 профиля антигена. Положительный контроль, отрицательный контроль и калибратор должны быть включены в каждую процедуру анализа. После того как полоски были приведены к комнатной температуре, откройте надрезом защитную оболочку и извлеките планшет с микролуночными полосками, покрытыми, антигеном. Ненужные для анализа полоски поместить назад в герметичный мешочек и вернуть на хранение при 2-8°C.

##### Инкубация сыворотки

**ПРИМЕЧАНИЕ:** После перерастворения калибратор готовый к использованию. Не разбавлять.

Проведите разбавление 1:21 положительного и отрицательного контролей и каждого образца пациента следующим образом:

1. В отдельные пробирки добавьте 50 мкл образца, положительного и отрицательного контроля. Добавить по 1000 мкл разбавителя в каждую пробирку. Тщательно перемешать содержимое каждой пробирки. Разбавитель образца изменит цвет, подтверждая то, что образец объединился с разбавителем.
2. Добавить по 100 мкл разбавителя образца в каждую лунку в ряду А.
3. Используя многоканальную пипетку, внесите контроли, калибратор и образцы пациентов как указано ниже. Внесите по 100 мкл на лунку. Перерастворенный калибратор готовый к внесению, **не разбавлять**.

		Номер ячейки				
Антиген:	Ряд:	1	2	3	4	5
Ag Mixture	A	Dil	Dil	Dil	Dil	Dil
Jo-1	B	NC	PC	Cal	Test 1	Test 2
Sm	C	NC	PC	Cal	Test 1	Test 2
Sm/RNP	D	NC	PC	Cal	Test 1	Test 2
SSA	E	NC	PC	Cal	Test 1	Test 2
SSB	F	NC	PC	Cal	Test 1	Test 2
Sci-70	G	NC	PC	Cal	Test 1	Test 2
Control Ag	H	NC	PC	Cal	Test 1	Test 2

4. Накройте лунки пленкой и инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 25 +/- 5 минут.
5. Промойте микролуночные полоски 5X.
  - a. Энергично встряхните жидкость из лунок.
  - b. Заполните каждую лунку промывочным буфером. Удостоверитесь в отсутствии в лунках воздушных пузырьков.
  - c. Повторите этапы a. и b. чтобы в общем количестве провести 5 промываний.
  - d. Встряхните промывочный раствор из всех лунок. Переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора. Осмотрите планшет, убедившись в отсутствии остатка промывочного раствора. В конце каждого рабочего дня собирайте промывочный раствор в емкость для отходов, и обрабатывайте гипохлоритом натрия 0.5% (10% бытовым отбеливателем).

##### ПРИМЕЧАНИЕ: Автоматизированная процедура промывки:

При использовании автоматизированной промывочной установки, отрегулируйте объем распределения на 300-350 мкл/лунку. Настройте цикл промывки на 5 промывок без задержки между промывками. Извлеките микротитровальный планшет из промывателя, переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора.

### Инкубация конъюгата

1. Добавьте 100 мкл раствора конъюгата в каждую лунку в том же темпе и порядке как добавлялись образцы.
2. Микролунки, во избежание испарения, можно накрыть. Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 25 +/- 5 минут.
3. Промойте микролунки, следуя предыдущей процедуре.

### Инкубация субстрата

1. Добавьте 100 мкл раствора субстрата ТМВ в каждую лунку в том же темпе и порядке, как добавлялся конъюгат. (1 мл субстрата ТМВ достаточно для 8 лунок).
2. Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 10-15 минут.
3. Остановите реакцию добавлением 50 мкл стоп раствора в каждую лунку, в том же темпе и порядке, как добавлялся ТМВ. Положительные образцы из синего цвета станут желтыми. После добавления стоп раствора постучите по планшету несколько раз убедившись, что образцы полностью смешаны.
4. Настройте считывающее устройство для считывания при длине волны 450 нм и измерьте оптическую плотность (ОП) каждой лунки. Планшет необходимо считать в пределах 30 минут после добавления стоп раствора.

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

### А. Вычисления

#### 1. Определение аутоантиген-специфической оптической плотности (ОП):

Контроли, калибратор, и анализируемые образцы все внесены в лунку с контрольным антигеном (ряд Н). Лунка контрольного антигена подготовлена покрытием и блокировкой пластмассы растворами, которые не содержат никаких аутоантигенов. Поэтому, лунка для контрольного антигена представляет возможным измерение неспецифической поглотительной способности в каждом образце. Аутоантиген-специфическая поглотительная способность может быть представлена как разница в оптической плотности между лункой покрытой антигеном и лункой контрольного антигена.

#### Пример:

Анализируемый образец А, ОП контрольной лунки (ряд Н) = 0.175

Анализируемый образец А, ОП лунки SSB (ряд F) = 1.563

ОП специфического SSB = 1.563 - от 0.175 до 1.388

При использовании соответствующей лунки контрольного антигена для каждого калибратора, контроля и образца, определите аутоантиген-специфическую ОП для каждого аутоантигена. Не вычитайте ОП контрольного антигена от ОП контрольной лунки конъюгата.

### 2. Калибратор

Основываясь на исследованиях здоровых и болезненных сывороток производителем было определено максимальное значение нормы аутоантигена (ААЕ) и соотносено с калибратором. Калибраторы позволяют определять значение единицы для каждого из аутоантигенов и исправить небольшие ежедневные отклонения в результатах анализа. Значение единицы (КВ) определено для каждого антигена аутоантигена в каждой партии компонентов набора и напечатано в перечне компонентов.

### 3. Преобразование Оптической плотности в ААУ/мл:

Преобразование аутоантиген-специфической ОП в значение единицы (ААЕ/мл) может быть представлено следующим уравнением:

Анализируемый образец ААЕ/мл = (А x В)/С

Где:

ААЕ/мл = Неизвестное значение единицы, которая будет определена

А = ОП анализируемого образца.

В = Значение единицы калибратора для анализируемого аутоантигена (ААЕ/мл).

С = ОП калибратора.

#### Пример:

Специфическая ОП анализируемого образца для SSA = 0.946

Специфическая ОП калибратора для SSA = 0.435

Значение единицы калибратора для SSA = 155 ААЕ/мл

**Анализируемый образец ААЕ/мл = (0.946 x 155)/0.435**

**Анализируемый образец = 337 ААЕ/мл для анти-SSA**

### В. Контроль качества

1. Во время каждой процедуры анализа необходимо включать поожительный контроль, отрицательный контроль, калибратор. Для каждого профиля полоски необходимо включать бланк разбавителя (ряд А) и бланк контрольного антигена (ряд Н). Бланк разбавителя измеряет неспецифическое взаимодействие

между конъюгатом и аутоантигеном. В лунке контрольного антигена проводится измерение неспецифического взаимодействия между антителом пациента и контрольным антигеном.

2. Обратитесь к перечню компонентов, включенному в каждый набор. Этот лист описывает свойства калибратора спецификации партии. Если калибратор находится вне диапазона, результаты считаются недействительными и результаты пациента не могут быть выведены.
3. Положительный и отрицательный контроли должны соответствовать следующим техническим требованиям: Положительный контроль должен быть > 180 ААЕ/мл Отрицательный контроль должен быть < 150 ААЕ/мл Положительный/отрицательный контроль должен быть ≥ 2.00.

Если контроли анализа не соответствуют вышеупомянутым техническим требованиям, то анализа считается недействительным и результаты пациента не могут быть выведены.

4. Вычислить среднее значение контрольных лунок конъюгата (ряд А). Это значение должно быть меньше чем 0.200. Повышенное среднее значение ОП конъюгата указывает на неадекватную промывку плохое качество воды или на загрязненные реагенты. Вариабильность от лунки к лунке указывает на плохое распыливание и/или недостаточную промывку от лунки к лунке.

### С. Интерпретация результатов

Используя 152 образца здоровых доноров, и 185 болезненных образцов, изготовитель установил следующие рекомендации по интерпретации результатов пациентов:

< 150 ААЕд/мл - Отрицательный

150 - 180 ААЕд/мл - Сомнительный

> 180 ААЕд/мл – Положительный

Используйте вышеупомянутые указания при оценке или интерпретации образцов пациентов. Сомнительные образцы должны быть проанализированы повторно. Образцы, которые являются неоднократно сомнительными, должны быть оценены с использованием дополнительного серологического метода. Повышенные уровни аутоантител к любому из аутоантигенов профиля могут быть показательны для специфического ревматического нарушения. Раздел ЗНАЧЕНИЕ И ОПИСАНИЕ этого вкладыша упаковки описывает некоторые из наиболее общих болезней, связанных с повышенными уровнями аутоантител.

**ЗАМЕЧАНИЕ:** При интерпретации результата анти-Sm/RNP, чтобы определить потенциальную активность анти-RNP (только), нужно одновременно рассмотреть результат анти-Sm и анти-Sm/RNP.

Например, ниже указаны три вероятных сценария:

А. Результат анти-Sm = 80, и результат анти-Sm/RNP = 986 ААЕ/мл. Пациент выражает значительное количество анти-RNP.

В. Результат анти-Sm = 493 ААТ/мл, и результат анти-Sm/RNP = 1139 ААЕд/мл. Пациент выражает значительные количества обоих аутоантител.

С. Результат анти-Sm = 37 ААЕд/мл, и результат анти-Sm/RNP = 63 ААЕд/мл. Пациент отрицателен к обоим аутоантителам.

### ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностического использования in vitro.
2. При работе с лабораторными реагентами следует соблюдать обычные предосторожности. В случае контакта с глазами, промойте немедленно большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью. Носите соответствующую защитную одежду, перчатки, и защитное средство для глаз/лица. Не вдыхайте пар. Уничтожайте отходы, соблюдая все местные, государственные и федеральные законы.
3. Лунки микропланшета ИФА не содержат жизнеспособные организмы. Однако, полоски должны рассматриваться как **ПОТЕНЦИАЛЬНО БИОЛОГИЧЕСКИ ОПАСНЫЙ МАТЕРИАЛ** и соответствующим образом обрабатываться.
4. Контроли человеческой сыворотки – **ПОТЕНЦИАЛЬНО БИОЛОГИЧЕСКИ ОПАСНЫЙ МАТЕРИАЛ**. Исходные материалы, от которых эти продукты были получены, путем проверки одобренными методами оказались отрицательными к антигену ВИЧ-1, HBsAg и к антителам против вируса гепатита С и ВИЧ. Однако, так как никакой метод тестирования не может полностью гарантировать отсутствия возбудителей инфекций, с этими продуктами необходимо обращаться с соблюдением 2 уровня биобезопасности, как рекомендовано руководством Центров контроля за болезнями/национальными институтами здравоохранения «Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях» при использовании любого потенциально инфекционного образца человеческой сыворотки или крови. (Текущая редакция; и Стандарт Администрации США по охране труда и здоровья по врожденным патогенам крови.

5. Четкое соблюдение времени и температуры инкубаций необходимо для точных результатов. **Всем реагентам нужно позволить достигнуть комнатной температуры (20-25°C) перед началом анализа.** Возвратите неиспользованные реагенты к охлажденной температуре немедленно после использования.
6. Неправильная промывка может вызвать ошибочные положительные или ошибочные отрицательные результаты. Перед добавлением конъюгата или субстрата убедитесь, что минимизировано количество любого остаточного промывочного раствора (например, путем промокания или аспирации). Не позволяйте лункам высохнуть между инкубациями.
7. Разбавитель образца, контроль, промывочный буфер и конъюгат содержат азид натрия в концентрации 0.1 % (w/v). Было установлено, что азид натрия образует свинцовые или медные соли азотистоводородной кислоты в лабораторных сточно-водопроводных системах, что при ударе может привести к взрыву. Во избежание этого, тщательно промывайте раковину водой после утилизации раствора, содержащего азид натрия.
8. Стоп раствор **ТОКСИЧЕН**. Причиняет ожоги. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при глотании. При несчастном случае или если Вы чувствуете себя плохо, немедленно обратитесь за медицинской помощью.
9. ТМВ раствор **ВРЕДЕН**. Раздражителен для глаз, системы органов дыхания и кожи.
10. Концентрат промывочного буфера - **РАЗДРАЖИТЕЛЬ**. Раздражителен для глаз, системы органов дыхания и кожи.
11. Вытереть дно планшета, чтобы не осталось жидкости и/или отпечатков пальцев, которые могут изменять оптическую плотность (ОП) считывания.
12. Разбавление или примешивание этих реагентов могут вызвать ошибочные результаты.
13. Не должны использоваться реагенты от других изготовителей.
14. ТМВ раствор во время использования должен быть бесцветным, очень светло-желтым, очень светло-зеленым или очень светло-синим. Загрязнение ТМВ конъюгатом или другими окислителями причиняет преждевременное изменение цвета раствора. Не используйте ТМВ, если это заметно посинел в цвете.
15. Никогда не пипетировать ртом. Избегать контакта реагентов и образцом пациентов с кожей и слизистыми оболочками.
16. Избегать бактериального загрязнения реагентов. Могут получиться неправильные результаты.
17. Перекрестное загрязнение реактивов и/или образцов может причинять ошибочные результаты.
18. Многогранная стеклянная посуда должна быть вымыта и полностью ополаскиваться от всех детергентов.
19. Избегать брызгов или образования аэрозолей.
20. Не подвергать реагенты сильному свету в течение хранения или инкубации.
21. Позволяйте микролуночным полоскам и штативу достичь комнатной температуры до открытия защитной оболочки, это предохранит лунки от конденсации.
22. Промывочный раствор должен быть собран емкостью для отходов. Обработайте переработанный раствор 10% отбеливающим веществом (0.5 % гипохлоритом натрия). Избегать влияния испарения отбеливателя на реагенты.
23. Предостережение: Жидкие отходы при кислотном pH должны быть нейтрализованы перед добавлением в раствор отбеливателя.
24. Не использовать планшет ИФА, если полоска индикатора на мешочке высушивающего средства превратилась с синего цвета в розовый.
25. Не позволять конъюгату вступать в контакт с емкостями или приборами, которые, возможно, перед этим содержали раствор с содержанием азид натрия в качестве консерванта. Остаточные количества азид натрия могут уничтожить ферментативное действие конъюгата.
26. Не подвергать никакой из активных реагентов влиянию раствора с содержанием отбеливателя или любых сильных ароматов в растворах отбеливающих веществ. Остаточные количества отбеливающего вещества (гипохлорита натрия) могут уничтожить биологическое действие многих из активных реагентов этого набора.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

1. Диагноз не должен ставиться исключительно на основании результатов анализа набора ENA Profile-6 ELISA.
2. Результаты испытаний должны интерпретироваться вместе с клинической оценкой и исходами других диагностических процедур.

#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемое значение для здорового пациента - отрицательный результат. Количество реагентов и степень реактивности зависит от параметров, таких как проверяемый тип совокупности, обработки и т.д. Каждая лаборатория должна установить свои собственные ожидаемые значения, основанные на образцах, зачастую анализируемых.

В зависимости от состояния болезни и процента реактивности, Таблица 1 в разделе ЗНАЧЕНИЯ и ОПИСАНИЕ этого вкладыша упаковки указывает на относительную частоту активности аутоантитела при различных ревматических нарушениях.

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Сравнительное изучение:

Внутреннее сравнительное изучение было проведено, чтобы определить эквивалентность ENA Profile-6 ELISA. ДАИ другим коммерчески располагаемым системам анализа аутоантител ELISA. Эффективность этого набора была оценена, используя 337\* образцов сыворотки, 152 здоровых донорских образцов из северо-восточных и юго-восточных штатов США, и 185 хранящихся болезненных образцов, предварительно характеризовавшихся активностью аутоантител. Результаты были обобщены в Таблице 1 и 2 ниже (см. в конце этой инструкции).

\* Полная совокупность, проверенная на анти-Jo-1 составила 126; 64 здоровых образца доноров, и 62 болезненные образца из хранилища.

#### ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

Для оценки вариативности в пределах анализа и между анализами были проанализированы сильно положительные, низко положительные, и отрицательные образцы на все аутоантигены. Анализ проводился 11 раз в течении 3 дней. Среднее единичное значение, стандартное отклонение и процент КВ были рассчитаны для каждого образца. Результаты этого исследования изображено в Таблицах 3 - 6 ниже (см. в конце этой инструкции).

#### ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Образцы, отрицательные к ANA путем иммунофлуоресцентного анализа HEp-2 и положительные к IgG антителу для различных антигенов, таких как EBV-VCA, EBNA, HSV-1, HSV-2, CMV, краснухи и/или токсоплазмы, были проверены на потенциальную перекрестную реактивность с использованием системы анализа ENA Profile-6 ELISA. Все проверенные ELISA образцы были отрицательными, указывая на то, что потенциал для перекрестной реактивности с такими антителами является маловероятным, и поэтому, не должен влиять на полученные результаты.



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

**Таблица 1: Относительная чувствительность: болезненные образцы**

Аутоантиген	A	B	C	D	Чувствительность
Jo-1	8	8	0	8	8/8 = 100.0%
Sm	13	16	3	13	13/13 = 100.0%
Sm/RNP	46	58	11	50	46/50 = 92.0%
SSA	56	74	18	57	56/57 = 98.2%
SSB	28	34	6	29	28/29 = 96.6%
Scl-70	8	17	9	8	8/8 = 100.0%
A -	Количество образцов, реагирующих на систему анализа ДАИ.				
B -	Количество образцов, реагирующих на имеющуюся в продаже систему анализа ELISA				
C -	Количество противоречивых образцов.				
D -	Количество положительных образцов в совокупности после растворения несоответствующих образцов с использованием альтернативной методологии, такой как гелевая иммунодиффузия (GID), иммунофлуоресцентный анализ и независимый ELISA.				

**Таблица 2: Относительная специфичность: здоровые донорские образцы**

Аутоантиген	E	F	G	H	Специфичность
Jo-1	64	64	0	64	64/64 = 100.0%
Sm	136	137	1	137	136/137 = 99.3%
Sm/RNP	141	144	3	144	141/144 = 97.9%
SSA	146	146	0	146	146/146 = 100.0%
SSB	147	147	0	147	147/147 = 100.0%
Scl-70	151	151	0	151	151/151 = 100.0%
E -	Количество образцов, не реагирующих на систему анализа ДАИ.				
F -	Количество образцов, не реагирующих на имеющуюся в продаже систему анализа ELISA				
G -	Количество противоречивых образцов.				
H -	Количество не реагирующих образцов в совокупности после растворения несоответствующих образцов с использованием альтернативной методологии, такой как гелевая иммунодиффузия (GID), иммунофлуоресцентный анализ и независимый ELISA.				

**Таблица 3. Воспроизводимость внутри анализа, «высоко положительный» образец**

ENA Profile-6 IgG ELISA ДАИ									
Антиген	День 1			День 2			День 3		
	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ
Jo-1	459	15	3	391	22	6	385	18	5
Sm	576	71	12	690	71	10	702	29	4
Sm/RNP	535	73	14	426	73	17	608	76	12
SSA	818	62	7	652	68	10	779	52	7
SSB	1022	120	12	881	65	7	987	67	7
Scl-70	669	95	14	626	65	10	726	93	3

**Таблица 4. Воспроизводимость внутри анализа, «низко положительный» образец**

ENA Profile-6 IgG ELISA ДАИ									
Антиген	День 1			День 2			День 3		
	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ
Jo-1	232	11	5	189	9	4	189	8	4
Sm	460	43	9	587	52	9	392	28	7
Sm/RNP	184	34	18	246	34	14	216	29	13
SSA	199	26	13	231	38	17	189	22	12
SSB	178	29	16	167	20	12	210	25	12
Scl-70	231	21	9	214	10	5	270	21	8

**Таблица 5. Воспроизводимость между анализами, отрицательный образец**

ENA Profile-6 IgG ELISA ДАИ									
Антиген	День 1			День 2			День 3		
	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ
Jo-1	5	2	Н/О	5	1	Н/О	4	1	Н/О
Sm	12	3	Н/О	8	3	Н/О	7	1	Н/О
Sm/RNP	26	4	Н/О	29	9	Н/О	22	6	Н/О
SSA	27	4	Н/О	14	6	Н/О	13	5	Н/О
SSB	2	2	Н/О	1	1	Н/О	1	1	Н/О
Scl-70	5	2	Н/О	5	3	Н/О	3	2	Н/О

**Таблица 6. Воспроизводимость внутри анализа**

ENA Profile-6 IgG ELISA ДАИ									
Антиген	День 1			День 2			День 3		
	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ	Среднее	СО	%КВ
Jo-1	412	38	9	203	23	11	5	2	Н/О
Sm	656	85	13	479	93	19	9	3	Н/О
Sm/RNP	532	97	18	216	42	19	26	7	Н/О
SSA	750	95	13	207	35	17	18	9	Н/О
SSB	963	108	11	185	32	17	1	1	Н/О
Scl-70	674	97	14	238	30	13	5	2	Н/О