

**НАБОР ИФА**  
**ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО СКРИНИНГА**  
**АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К SS-A 60, SS-A 52,**  
**SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl-70 И Jo-1**

**ORG 206, ENAScreen**

Каталог. № : **ORG 206**  
Количество : **96 и 192**  
Производитель: **Orgentec (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 качественного скрининга антител класса IgG к SS-A 60, SS-A 52, SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl-70 и Jo-1 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 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**

- 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 206-24	Достаточно для проведения 24 анализов
ORG 206-12	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: <b>Контроль:</b> желтого цвета; содержит специфические антитела, PBS, BSA, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%.
	Лунка 6: <b>Ферментный конъюгат;</b> светло-красный; содержит анти-человеческие IgG антитела, меченные HRP; PBS, BSA, моющее средство, консервант Проклина 0,05%.
	Лунка 7: <b>Буфер для разведения образцов:</b> желтый; содержащий PBS, BSA, моющее средство, консервант азида натрия 0,09%.
	Лунка 8: <b>ТМБ субстрат:</b> прозрачный; содержащий 3,3',5,5'-Тетраметилбензидин.
	Смесь извлекаемых ядерных антигенов (ENA) SS-A (52 а 60 кДа), SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl 70 и Jo-1 привита в лунки.
1 x 20 мл	Код продукта на штрих-коде <b>ENAScreen</b> 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<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.

### 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 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

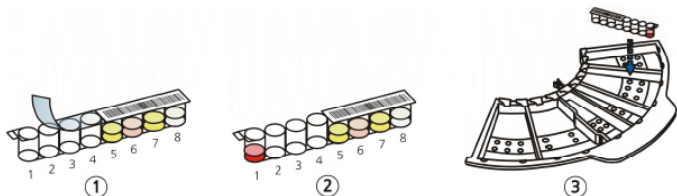
Достать необходимое количество тест-полосок из упаковки и привести их к комнатной температуре (20-28 °C). Не снимать покрытие с пустых скважин, пока вы не готовы начать анализ.

### 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

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

### 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 ОП образца на ОП внутреннего 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

Положительный: Индекс ≥ 1.0

### 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 П/О
		Ед/мл	Ед/мл	
1	1:100	5.4	5.4	100
	1:200	2.9	2.7	107
	1:400	1.5	1.4	111
2	1:800	0.7	0.7	104
	1:100	6.3	6.3	100
	1:200	3.4	3.2	108
3	1:400	1.4	1.6	91
	1:800	0.6	0.8	81
	1:100	4.7	4.7	100
	1:200	2.2	2.4	95
	1:400	1.4	1.2	115
	1:800	0.6	0.6	106

### 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
	[Index]	[%]
1	1.4	4.5
2	2.8	1.3
3	5.1	5.3

Inter-Assay		
Sample	Mean	CV
	[Index]	[%]
1	1.5	8.0
2	3.0	8.6
3	5.4	7.4

### 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

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 206	Pos	51	3	135
ENAScreen	Neg	4	77	
		55	80	
Sensitivity:		92.7	%	
Specificity:		96.3	%	
Overall agreement:		94.8	%	

## 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.

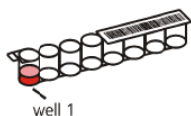
Указанные выше патологические и нормальные значения, характерные для антител в образцах пациента, следует использовать только в качестве рекомендаций. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ИСО 15189 или других применимых лабораторных принципов.

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

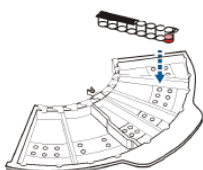


**2** Пипетировать 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

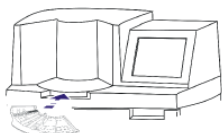
**Исключение:** в случае проведения теста Anti-GBM (ORG 250) пипетировать 20 мкл неразбавленного образца!



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