

ЕКСТРАГУЮЧІ ЯДЕРНІ АНТИТІЛА, СКРИНІНГ

ENAscreen

Кат. №: **ORG 206**

Дата випуску інструкції: **2018-01-02**
Версія **4**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір ENAscreen – це тестова система на основі ІФА для якісного скринінгу аутоантитіл класу IgG до ядерних антигенів, що екстрагуються (ENA): SS-A 60, SS-A 52, SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl-70 та Jo-1 у зразках людської сироватки або плазми. Цей продукт призначений тільки для професійного використання в *in vitro* діагностиці.

Цей тест використовується як допомога для скринінгу та диференціації запальних аутоімунних захворювань, наприклад, системного червоного вовчака, захворювання змішаної сполучної тканини, синдрому Шьогрена, склеродермії та поліміозиту/дерматомиозиту. Оцінка результатів тесту завжди повинна враховувати всі клінічні та лабораторні діагностичні висновки.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Суміш ядерних антигенів, що екстрагуються (ENA) SS-A (52 а 60 кДа), SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl 70 та Jo-1 нанесена в мікролунки.

Аналіз Alegria® включає в себе 8-милункові мікросмужки зі штрих-кодами, які називаються Тест-смужками Alegria®. Кожна смужка призначена для аналізу одного зразка пацієнта. Тестова смужка містить повний комплект реагентів. Сюди включені ферментний кон'югат, ферментний субстрат, буфер для розведення зразків і специфічний тестовий контроль. Крім того, кожна смужка має дві лунки, покриті антигеном, які служать в якості реакційних лунок для контролю та зразка пацієнта.

Визначення ґрунтується на непрямій ферментно-пов'язаній імунній реакції з наступними стадіями: Антитіла, присутні в позитивних зразках, зв'язуються з антигеном, нанесеним на поверхню двох реакційних лунок, утворюючи комплекс антиген-антитіло. Після інкубації, на першому етапі промивання видаляються незв'язані і не специфічно пов'язані молекули. Послідовно доданий ферментний кон'югат зв'язується з іммобілізованим комплексом антитіло-антиген. Після інкубації під час другої промивки видаляється незв'язаний ферментний кон'югат. Додавання розчину ферментного субстрату призводить до гідролізації і розвитку кольору під час інкубації. Інтенсивність синього кольору відповідає концентрації комплексу антитіло-антиген і може бути виміряна фотометрично при 650 нм.

Даний тест заснований на запатентованій SMC®-технології (Sensotronic Memorized Calibration): інформація про тест, аналіз та його оцінка, а також термін придатності для конкретної партії містяться на штрих-кодї, зазначеному на кожній тест-смужці Alegria®.

Тест-смужки Alegria® можна використовувати з діагностичним інструментом Alegria® - повністю автоматизованим аналізатором з довільним доступом. За допомогою SMC®-Технології дані, закодовані на штрих-кодї, передаються від тест-смужки Alegria® до приладу та аналіз автоматично обробляється і оцінюється. Прилад зчитує дату терміну придатності і відкидає подальшу обробку, якщо вийшов термін придатності тест-смужки Alegria®.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Всі реагенти набору призначені тільки для діагностики *in vitro*.
- Компоненти набору містять матеріали людського походження, які протестовані методами, схваленими FDA, на відсутність антитіл до гепатиту В і ВІЛ. Однак, жоден метод не може гарантувати, що продукти людського походження не інфіковані. Отже, з реагентами та зразками сироватки слід поводитись як з потенційно інфекційно небезпечними.
- Бічачий сироватковий альбумін (БСА), використаний в компонентах, був протестований на BSE і виявився негативним.
- Уникайте контакту з ТМБ (3,3', 5,5' - Тетраметилбензидином).
- Рідина системи містить кислоту, класифікація - небезпечна. Уникати контакту зі шкірою.
- Контроль, буфер для зразків і промивний буфер містять азид натрію 0,09% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.

- Ферментний кон'югат, контроль і буфер для зразків містять ProClin 300 0.05% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.

Під час обробки всіх реагентів, зразків і сироватки дотримуватися існуючих правил лабораторної безпеки і належної лабораторної практики:

- Заходи першої допомоги: При попаданні на шкіру, негайно ретельно промити водою з милом. Зняти забруднений одяг і взуття і вимити перед повторним використанням. Якщо рідина системи вступає в контакт зі шкірою, ретельно промийте водою. Після контакту з очима ретельно промити відкрите око проточною водою протягом не менше 10 хвилин. Зверніться до лікаря, якщо це необхідно.

- Особиста безпека, захисне спорядження і надзвичайні заходи: Дотримуватися правил техніки безпеки лабораторії. Уникати контакту зі шкірою та очима. Не ковтати. Не піпетувати ротом. Не приймати їжу, не пити, не курити і не наносити макіяж в тих областях, де знаходяться зразки або реагенти набору. При розливанні зібрати з інертним матеріалом і утилізувати.

- Засоби індивідуального захисту: Одягати захисні рукавички з нітритного каучуку або натурального латексу. Носіть захисні окуляри.

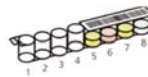
- Умови, яких слід уникати: Так як розчин субстрату є світлочутливим, зберігати смужки Alegria® в темряві.

- Для утилізації лабораторних відходів дотримуватися національного або регіонального законодавства.

Дотримуйтеся рекомендацій для виконання контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролю і/або об'єднаних сироваток.

ВМІСТ НАБОРУ

- 24 ORG 206-24 Достатньо для проведення 24 аналізів
- Тестові смужки Alegria® є модулями по 8 лунок кожна, які складаються з:



Лунки 1+2: Порожні і без нанесення (лунки для розведення зразків)

Лунки 3+4: Вкриті антигеном (реакційні лунки)

Лунка 5: Контроль; жовтого кольору; містить специфічні антитіла, PBS, BSA, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09% і ProClin 300 0.05%.

Лунка 6: Ферментний кон'югат; світло-червоний; містить антилюдські IgG антитіла, мічені HRP; PBS, BSA, миючий засіб, консервант ProClin 300 0.05%.

Лунка 7: Буфер для розведення зразків: жовтий; містить PBS, BSA, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09% і ProClin 300 0.05%.

Лунка 8: ТМБ субстрат: прозорий; містить 3,3', 5,5' - Тетраметилбензидин.

Штрих-код: **ENAscreen** На роздруківці: **ENAscr**

1 x 20 мл Промивний буфер, що містить Трис, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09%; 50 x концентрат

1 x 2.5 мл Системна рідина, містить кислоту; 1000 x концентрат

1 Сертифікат аналізу

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- Зберігати набір при 2 - 8 °С в темряві.
- Не піддавати реагенти для аналізу впливу тепла, сонця або сильного світла в перебігу зберігання та використання.
- Тримати мікропланшетні лунки в герметичному мішечку з осушувачем.
- Термін придатності запечатаного набору становить 15 місяців від дати виготовлення. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності набору.
- Розведений Буфер для Зразків та Системна Рідина стабільні принаймні 30 днів при 2-8 °С. Рекомендуються використання в той же день.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

- Вортексний міксер
- Піпетки на 10 мкл
- Мірний циліндр на 1000 мл і 2500 мл
- Дистильована або деіонізована вода

ЗБІР, ЗБЕРІГАННЯ І РОБОТА ЗІ ЗРАЗКАМИ

- Зберіть зразки цільної крові, використовуючи прийнятну медичну технологію, уникаючи гемолізу.
- Дайте можливість крові згуститися і відокремте сироватку центрифугуванням.

- Сироватка повинна бути чистою і негемолізованою. Необхідно уникати гемолітичної або ліпемічної сироватки.
- Зразки повинні зберігатися при 2-8 °C до 5 днів або при -20 °C до шести місяців.
- Уникайте повторного заморожування і розморожування зразків. Це може призвести до втрати активності ауто антитілами.
- Не рекомендовано тестування інактивованої теплою сироватки.

ПРОЦЕДУРНІ ЗАУВАЖЕННЯ

- Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну придатності.
- Всі матеріали слід привести до кімнатної температури.
- Для запобігання забруднення міняйте наконечники між зразками.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер

Розведіть концентрат Промивного буфера (50x) з 5-кратним концентратом буфера зразків дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням. Внести розбавлений промивний буфер в контейнер для реагенту інструменту. Якщо тільки один аналіз на день проводиться, ми рекомендуємо вносити тільки 500 мл розведеного Промивального Буфера.

Системна рідина

Розвести концентрат Системної Рідини (1000x) з дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 2500 мл перед використанням. Перенести розбавлену Системну Рідину в контейнер для реагенту інструменту.

Тестові смужки

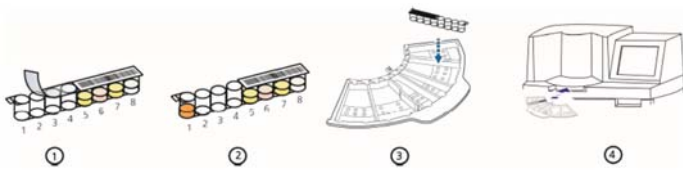
Дістати необхідну кількість тест-смужок з упаковки і привести їх до кімнатної температури (20-28 °C). Не знімати покриття з порожніх лунок, поки ви не готові розпочати аналіз.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Тест-смужки Alegria® з технологією SMC® використовуються з діагностичним інструментом Alegria®.

Детальну інформацію про роботу з приладом можна знайти в інструкції щодо застосування.

- 1) Зніміть покриття з порожніх лунок 1-4 на тест-смужках Alegria®. **Не знімайте покриття з лунок 5-8 з нанесеним на них штрих-кодом.**
- 2) Піпетувати 10 мкл нерозбавленого зразка пацієнта (сироватка або плазма) в нижню частину лунки 1.
- 3) Помістіть смужку в SysTray. Поставити завантажений SysTray в правильне положення в приладі Alegria® і почати роботу. Всі подальші кроки будуть зроблені автоматично. Проведення аналізу вважається завершеним, коли прилад починає друкувати результати.



КАЛІБРУВАННЯ

Аналітична система відкалібрована відповідно до міжнародно визнаних еталонних сироваток від CDC, Атланта, США.

ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

За допомогою SMC® Технології всі тестові дані передаються в систему через окремі штрих-коди на тест-смужках. Розрахунок і інтерпретація результатів виконуватимуться автоматично.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для якісних результатів "Index Value" (Індекс) автоматично обчислюється шляхом ділення OD зразка на OD внутрішнього cut-off контролю.

Очікувані результати

У дослідженні нормального діапазону з використанням зразків від здорових донорів крові такі діапазони були отримані з даним аналізом: Граничне значення Cut-off: Індекс 1.0

Інтерпретація результатів

Негативний: Індекс < 1.0
Позитивний: Індекс ≥ 1.0

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Цей аналіз призначений в якості діагностичної допомоги. Певний клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах одного тесту, він повинен бути зроблений лікарем після оцінки всіх клінічних та лабораторних досліджень.

Також кожне рішення для терапії слід приймати індивідуально.

Вище зазначені патологічні і нормальні діапазони для антитіл в зразках пацієнта слід розглядати тільки як рекомендації. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні норми, відповідно до ISO 15189 або інші діючі правила лабораторії.

Лінійність

Три зразки пацієнтів, які містять високі рівні специфічних антитіл, серійно розводили в буфері для зразка, щоб продемонструвати динамічний діапазон аналізу. Активність для кожного розведення було розраховано за допомогою технології SMC®.

Sample	Dilution	Observed Index	Expected Index	O/E [%]
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	1:100	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
3	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

Відтворюваність

Точність в межах тесту: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків з результатів 24 визначень в одному аналізі. Результати для точності в межах аналізу наведені в таблиці нижче.

Точність між тестами: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 6 визначень в 5 різних аналізах. Результати для виконання до запуску точності наведені в таблиці нижче.

В середині аналізу		
Зразок	Середнє значення Індексу	КВ [%]
1	1.4	4.6
2	2.8	1.8
3	5.1	5.8

Між аналізами		
Зразок	Середнє значення Індексу	КВ [%]
1	1.5	8.0
2	3.0	8.6
3	5.4	7.4

Інтерферуючі речовини

Не спостерігалось інтерференції при тестуванні зразків з гемолізом (до 1000 мг/дл), ліпемією (до 3 г/дл тригліцеридів) або підвищеним вмістом білірубину (до 40 мг/дл). Не спостерігалось будь-якого впливу при використанні антикоагулянтів (Цитрат, ЕДТА, гепарин). Однак, не рекомендується використовувати зразки з сильним гемолізом або ліпемією.

Результати досліджень

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 ENAscreen	Pos	51	3	135
	Neg	4	77	
		55	80	

Чутливість: 92.7 %
Специфічність: 96.3 %
Загальна узгодженість: 94.8 %



ВИРОБНИК

ОРДЖЕНТЕК Діагностика ГмбХ
Карл-Цайс-Штрассе 49-51
55129 Майнц - Німеччина
Телефон: +49 (0) 61 31/92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31/92 58-58
Інтернет: www.orgentec.com



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

